



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0152227
(43) 공개일자 2022년11월15일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/17 (2015.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/725 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 35/17 (2013.01)
A61K 39/001117 (2018.08)
- (21) 출원번호 10-2022-7031315
(22) 출원일자(국제) 2021년02월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년09월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/017737
(87) 국제공개번호 WO 2021/163389
국제공개일자 2021년08월19일
- (30) 우선권주장
62/975,731 2020년02월12일 미국(US)
- (71) 출원인
주노 셰리퓨티크스 인코퍼레이티드
미국 워싱턴 98109 시애틀 스위트 1200 텍스터 애비뉴 노스 400
- (72) 발명자
웨스토비, 매튜
미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터 애비뉴 노스 400
브릭스, 아드리안 랭햄
미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터 애비뉴 노스 400
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인이름리온

전체 청구항 수 : 총 121 항

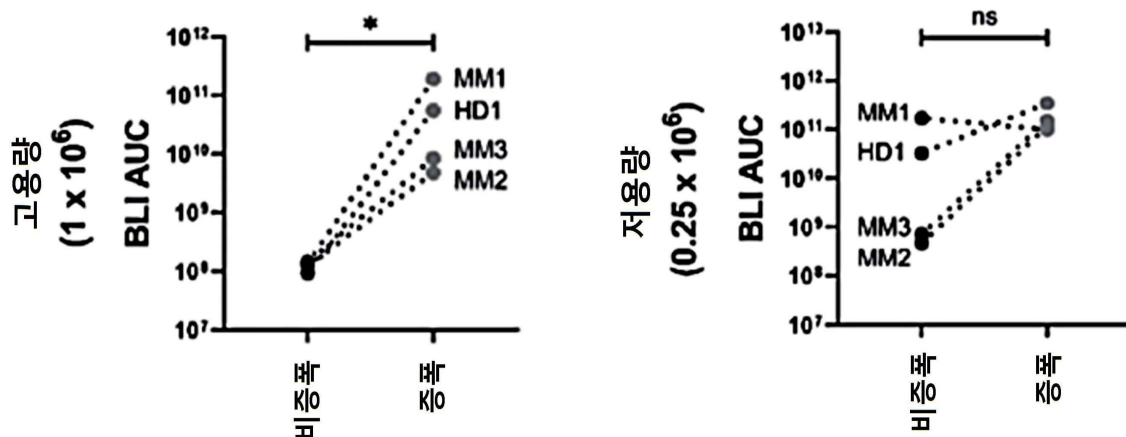
(54) 발명의 명칭 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 T 세포 조성물 및 이의 방법 및 용도

(57) 요약

일부 측면에서, 다발성 골수종(MM)과 같은 질병 및 병태를 가진 대상체를 치료하기 위한 세포들의 조성물, 및 그와 관련된 방법, 조성물, 용도 및 제조품이 제공된다. 일부 구현예에서, 질병 또는 병태는 재발성 또는 불응성 다발성 골수종(r/r MM)이다. 상기 세포는 일반적으로 상기 골수종의 세포 상에서 BCMA와 같은 항원을 표적화하기 위한 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 재조합 수용체를 발현한다.

대표도

종양 대조군



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C07K 16/2878 (2013.01)
A61K 2039/5156 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2319/02 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)

(72) 발명자

쿠글러, 데이비드 지.

미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터
 애비뉴 노스 400

캐스페리, 로버트 가이

미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터
 애비뉴 노스 400

찬, 켈빈

미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터
 애비뉴 노스 400

바룬, 디브야

미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터
 애비뉴 노스 400

젤메로스, 로살

독일, 뮌헨 81675 그릴팔젤스트라쎄 10

스탬페르게르, 크리스찬

독일, 뮌헨 81675 그릴팔젤스트라쎄 10

폴토락, 매쉴즈 파웰

독일, 뮌헨 81675 그릴팔젤스트라쎄 10

마슈어, 키난

미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터
 애비뉴 노스 400

바투레비치, 오렉산드르

미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터
 애비뉴 노스 400

키라부즈, 널겔

미국, 뉴저지 07901, 모리스 애비뉴 서밋 86

헤지, 크리스텐

미국, 뉴저지 07901, 모리스 애비뉴 서밋 86

벌게스, 마이클

미국, 뉴저지 07901, 모리스 애비뉴 서밋 86

우, 카이다

미국, 뉴저지 07901, 모리스 애비뉴 서밋 86

살몬, 루스 아만다

미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터
 애비뉴 노스 400

코젤, 애슐리

미국, 뉴저지 07901, 모리스 애비뉴 서밋 86

명세서

청구범위

청구항 1

다발성 골수종(multiple myeloma, MM)을 치료하는 방법으로서,

상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(B cell maturation antigen, BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor, CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,

상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;

상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;

상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며; 그리고

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이브(naive)-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 2

다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,

상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,

상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;

상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 100×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;

상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며; 그리고

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 이고/거나 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 약 1:2.5 내지 약 5:1의 비로 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 약 1:2 내지 약 4:1,

약 1:1.5 내지 약 2:1, 또는 (약) 1:1의 비로 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 약 5:1 내지 약 2:1, 약 4:1 내지 약 2:1, 약 3:1 내지 약 2:1, (약) 5:1, (약) 4:1, (약) 3:1, 또는 (약) 2:1의 비로 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 6

제2항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 40×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 10×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 (약) 10×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제8항 및 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 (약) 30×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 (약) 40×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 $CD3^+$ 세포인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 91%, 적어도 또는 적어도 약 92%, 적어도 또는 적어도 약 93%, 적어도 또는 적어도 약 94%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 또는 적어도 또는 적어도 약 96%는 $CD3^+$ 세포인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 2% 내지 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 5% 내지 (약) 10%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 10% 내지 (약) 15%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 15% 내지 (약) 20%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 20% 내지 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 5%, (약) 10%, (약) 15%, (약) 20%, (약) 25%, 또는 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 22

제2항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 80% 내지 (약) 85%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 85% 내지 (약) 90%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 90% 내지 (약) 95%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로

하는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 95% 내지 (약) 99%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 28

제1항 및 제3항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이트-유사 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서,

나이트-유사 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 상기 표지자는 CD45RA, CD27, CD28, 및 CCR7로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 30

제1항 및 제3항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$, $CD27^{+}CCR7^{+}$, 또는 $CD62L^{-}CCR7^{+}$ 에서 선택되는 표현형을 갖는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 80% 내지 (약) 85%, (약) 85% 내지 (약) 90%, (약) 90% 내지 (약) 95%, 또는 (약) 95% 내지 (약) 99%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$, $CD27^{+}CCR7^{+}$, 또는 $CD62L^{-}CCR7^{+}$ 에서 선택되는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 80%, (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$, $CD27^{+}CCR7^{+}$, 또는 $CD62L^{-}CCR7^{+}$ 에서 선택되는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 80%, (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는, $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는, $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는, $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는, $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는, $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는, $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는, $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는, $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는, $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는, $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는, $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는, $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는, $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 54

제1항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(integrated vector copy number, iVCN)의 분율(fraction)은 평균적으로 (약) 0.9 미만인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.9 내지 (약) 0.8인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 56

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.8 미만인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 57

제1항 내지 제54항 및 제56항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.8 내지 (약) 0.7인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 58

제1항 내지 제54항 및 제56항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.7 내지 (약) 0.6인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 59

제1항 내지 제54항 및 제56항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.6 내지 (약)

0.5인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 60

제1항 내지 제54항 및 제56항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 총 VCN에 대한 통합 백터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.5 내지 (약) 0.4인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 61

제1항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 통합 백터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.4개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 62

제1항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 통합 백터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.8개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 63

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 통합 백터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.8개 카피 내지 2배체 게놈 당 1.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 64

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 통합 백터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 1.0개 카피 내지 2배체 게놈 당 1.5개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 65

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 통합 백터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 1.5개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 66

제1항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서,

조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 적어도 3회의 선행 항골수종

치료 계획(treatment regimen)을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 67

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 다음의 항골수종 치료 계획들: 자가 줄기세포 이식(ASCT); 면역 조절제 및 프로테아좀 억제제를 포함하는 계획(regimen); 및 항-CD38 제제 중 3개 모두를 받은 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 68

제66항 또는 제67항에 있어서,

조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 상기 지난 항골수종 치료 계획에 대해 불응성인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서,

불응성 골수종은 상기 지난 항-골수종 치료 계획으로 치료를 완료하고, 12개월 동안 또는 그 이내에, 최종 투여량으로부터 측정된, 문서화된 진행성 병변으로서 정의되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 70

제1항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 대상체는 선행 CAR T 세포 또는 유전자 변형 T 세포 요법을 받지 않은 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 대상체는 항-BCMA 단클론 항체 또는 이중특이성 항체와 같은 선행 BCMA-표적화 요법을 받지 않은 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 72

제1항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서,

조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물을 제조하기 위해 상기 대상체로부터 백혈구 성분채집술 샘플을 수득하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 73

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CAR은:

(a) 세포의 항원 결합 도메인—상기 세포의 항원 결합 도메인은:

서열 번호: 116에 제시된 서열 내에 함유된 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-H2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-H3)을 포함하는 가변 중쇄(V_H) 및 서열 번호: 119에 제시된 서열 내에 함유된 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-L2) 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-L3)을 포함하는 가변 경쇄(V_L);

각각 서열 번호: 97, 101 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ;

각각 서열 번호: 96, 100 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ;

각각 서열 번호: 95, 99 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ;

각각 서열 번호: 94, 98 및 102에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 104, 106 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 또는

서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 V_L ;

을 포함함—;

(b) IgG4/2 키메라 힌지 또는 변형된 IgG4 힌지; IgG2/4 키메라 C_H2 영역; 및 IgG4 C_H3 영역;을 포함하는 스페이서—이는 선택적으로 약 228개 아미노산 길이이고; 선택적으로 상기 스페이서는 서열 번호: 174에 제시됨—;

(c) 막관통 도메인—선택적으로 인간 CD28 유래 막관통 도메인—; 및

(d) CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 세포질 신호전달 도메인 및 T 세포 공자극 분자의 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 신호전달 부분을 포함하는 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;

을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 74

제73항에 있어서,

상기 V_H 는 서열 번호: 116의 아미노산 서열이거나 이를 포함하고; 상기 V_L 은 서열 번호: 119의 아미노산 서열이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 75

제73항 또는 제74항에 있어서,

상기 세포의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 76

제73항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 V_H 및 상기 V_L 은 가요성 링커에 의해 연결되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 77

제75항 또는 제76항에 있어서,

상기 scFv는 아미노산 서열 GGGGSGGGSGGGGS(서열 번호: 1)을 포함하는 링커를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 78

제73항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 114의 아미노산 서열 또는 서열 번호: 114의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 79

제73항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 80

제73항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포질 신호전달 도메인은 서열 번호: 143에 제시된 서열 또는 서열 번호: 143에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 81

제73항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 공자극 신호전달 영역은 CD28, 4-1BB 또는 ICOS의 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 신호전달 부분을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 82

제73항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 공자극 신호전달 영역은 4-1BB, 선택적으로 인간 4-1BB의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 83

제73항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 공자극 신호전달 영역은 서열 번호: 4에 제시된 서열 또는 서열 번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 84

제73항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 공자극 신호전달 영역은 상기 막관통 도메인과 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 상기 세포질 신호전달 도메인 사이에 존재하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 85

제73항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 막관통 도메인은 인간 CD28 유래의 막관통 도메인이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 86

제73항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 막관통 도메인은 서열 번호: 138에 제시된 서열 또는 서열 번호: 138에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 87

제73항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CAR은 그 N 말단에서 C 말단까지 상기 세포외 항원 결합 도메인, 상기 스페이서, 상기 막관통 도메인 및 상기 세포내 신호전달 영역을 순서대로 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 88

제1항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CAR은:

(a) 서열 번호: 114에 제시된 서열 또는 서열 번호: 114의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;

(b) 서열 번호: 174에 제시된 서열 또는 서열 번호: 174에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 스페이서;

(c) 서열 번호: 138에 제시된 서열 또는 서열 번호: 138에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 막관통 도메인; 및

(d) 서열 번호: 143에 제시된 서열 또는 서열 번호: 143에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 세포질 신호전달 및 서열 번호: 4에 제시된 서열 또는 서열 번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;

을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 89

제1항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CAR은:

(a) 서열 번호: 114에 제시된 서열을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;

(b) 서열 번호: 174에 제시된 서열을 포함하는 스페이서;

(c) 서열 번호: 138에 제시된 서열을 포함하는 막관통 도메인; 및

(d) 서열 번호: 143에 제시된 서열을 포함하는 세포질 신호전달 및 서열 번호: 4에 제시된 서열을 포함하는 공 자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;

을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 90

제1항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CAR은 서열 번호: 19에 제시된 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 91

제1항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 투여 전에, 상기 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 20 내지 $40\text{mg}/\text{m}^2$ (상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) $30\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈 및/또는

2 내지 4일 동안 매일 (약) 200 내지 $400\text{mg}/\text{m}^2$ (상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) $300\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받은 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 92

제1항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은, 선택적으로 투여 개시 후 지정된 시점에, MM을 갖는 대상체들의 코호트(cohort)에서 대상체들 중 적어도 하나에서 또는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%에서 명시된 반응 또는 결과를 달성할 수 있고,

여기서 상기 반응 또는 결과는 객관적 반응(objective response, OR), 완전 반응(complete response, CR), 엄격한 완전 반응(stringent complete response, sCR), 매우 양호한 부분 반응(very good partial response, VGPR), 부분 반응(partial response, PR) 및 최소 반응(minimal response, MR)으로 구성된 군에서 선택되고/거나;

상기 반응 또는 결과는 OR이거나 이를 포함하고/거나;

상기 반응 또는 결과는 CR이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 93

제92항에 있어서,

상기 반응 또는 결과는 (약) 3, 6, 9 또는 12개월 넘는 기간 동안 지속되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 94

제92항 또는 제93항에 있어서,

상기 지정된 시점 이후 (약) 3, 6, 9 또는 12개월에 판정된 반응 또는 결과는 상기 지정된 시점에 판정된 반응 또는 결과와 비교하여 동일하거나 개선된 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 95

제1항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 어떤 사이토카인 방출 증후군(CRS)도 초래하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 96

제1항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 중증 사이토카인 방출 증후군(CRS)을 초래하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 97

제1항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 어떤 신경 독성도 초래하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 98

제1항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 중증 신경 독성을 초래하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 99

제1항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 중증 CRS 및 중증 신경 독성을 초래하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 100

제1항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 중증 CRS 및 중증 신경 독성을 초래하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 101

제96항, 제99항 및 제100항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 중증 CRS는 3급 이상, 4급 이상 또는 5급 CRS인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 102

제98항, 제99항 또는 제100항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 중증 신경 독성은 3급 이상, 4급 이상 또는 5급인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 103

제1항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 조성물의 투여는 통원환자(outpatient) 기준으로 및/또는 상기 대상체가 병원에 입원하지 않고/거나 병원에 하루 밤 숙박하지 않고/거나 병원에 입원 또는 하루 밤 숙박이 필요함 없이, 선택적으로 상기 대상체가 지속 열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 104

제1항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서,
조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물은 비경구적으로, 선택적으로 정맥내 투여되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 105

제1항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 대상체는 인간 대상체인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 106

제1항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서,

조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물은:

- (i) 1차 T 세포를 포함하는 투입 조성물, 선택적으로 상기 대상체로부터 선택된 자가 T 세포를 포함하는 투입 조성물,을 T 세포를 자극하는 조건 하에 복수의 스트렙타비딘 뮤테인 분자를 포함하는 올리고머성 입자 시약을 포함하는 자극 시약과 함께 노출시키고, 그에 의해 자극된 집단을 생성하는 단계—상기 올리고머성 입자 시약은 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 제1 제제 및 항-CD28 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 제2 제제를 포함함—;
 - (ii) 상기 자극된 집단의 T 세포 내로 BCMA를 표적화하는 CAR을 암호화하는 이중 폴리뉴클레오타이드를 도입하고, 그에 의해 형질전환된 세포의 집단을 생성하는 단계;
 - (iii) 상기 형질전환된 세포의 집단을 최대 96시간 동안 인큐베이션하는 단계; 및
 - (iv) 상기 형질전환된 세포의 집단의 T 세포를 수확하고, 이에 의해 조작된 세포의 조성물을 생산하는 단계—상기 수확은 상기 자극 시약에 노출이 개시된 후 24 내지 120시간 시점에(수치 포함) 수행됨—;
- 를 포함하는 제조 공정에 의해 생산되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 107

제106항에 있어서,

상기 항-CD3 항체 또는 항원 결합 단편은 Fab이고 상기 항-CD28 항체 또는 항원 결합 단편은 Fab인 것을 특징으로

로 하는, 방법.

청구항 108

제106항 또는 제107항에 있어서,

상기 제1 제제 및 상기 제2 제제 각각은 상기 제1 제제 및 상기 제2 제제를 상기 올리고머성 입자 시약에 가역적으로 결합하는 스트렙타비딘-결합 펩타이드를 포함하고, 선택적으로 상기 스트렙타비딘-결합 펩타이드는 서열 번호: 266 내지 270 중 어느 하나에 제시된 아미노산의 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 109

제106항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 스트렙타비딘 뮤테인 분자는 아미노산 잔기 Val44-Thr45-Ala46-Arg47 또는 Ile44-Gly45-Ala46-Arg47을 포함하는 스트렙타비딘 뮤테인의 4량체이고, 선택적으로 상기 스트렙타비딘 뮤테인은 서열 번호: 257, 272, 275, 277, 279, 273 또는 276 중 어느 하나에 제시된 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 110

제106항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 올리고머성 입자 시약은 1,000 내지 5,000개 스트렙타비딘 뮤테인 4량체(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 111

제106항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 상기 세포를 수확하기 전에 상기 인큐베이션 후에 또는 동안에 비오틴 또는 비오틴 유사체를 첨가하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 112

제106항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수확은 상기 자극 시약에 노출이 개시된 후 48 내지 120시간 시점에(수치 포함) 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 113

제106항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수확은 상기 계놈에서 통합 벡터가 검출되는 시점에 하지만 2배체 계놈 당 안정적 통합 벡터 카피수(iVCN)를 달성하기 전에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 114

제106항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수확은 수확 시 생존 세포의 총 수가 상기 자극된 집단의 총 생존 세포의 수의 (약) 3배를 넘기 전 시점에

수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 115

제106항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수확은 수확 시 생존 세포의 총 수가 상기 자극된 집단의 총 생존 세포의 수의 (약) 3배이거나, (약) 2배이거나, 또는 이와 동일하거나 거의 동일한 시점에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 116

제106항 내지 제115항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수확은, $CD27^+CCR7^+$ 세포의 백분율이 형질전환된 세포의 집단에서 총 T 세포, 형질전환된 세포의 집단에서 총 $CD3^+$ T 세포, 형질전환된 세포의 집단에서 총 $CD4^+$ T 세포, 또는 형질전환된 세포의 집단에서 총 $CD8^+$ T 세포, 또는 이들의 CAR-발현 세포 중 (약) 50%보다 큰 시점에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 117

제106항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수확은, $CD45RA^+CCR7^+$ 및 $CD45RA^-CCR7^+$ 세포의 백분율이 형질전환된 세포의 집단에서 총 T 세포, 형질전환된 세포의 집단에서 총 $CD3^+$ T 세포, 형질전환된 세포의 집단에서 총 $CD4^+$ T 세포, 또는 형질전환된 세포의 집단에서 총 $CD8^+$ T 세포, 또는 이들의 CAR-발현 세포 중 (약) 60%보다 큰 시점에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 118

제1항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 투여된 조성물 내 세포는 (i) 조작된 $CD4^+$ T 세포 및 조작된 $CD8^+$ T 세포를 포함하고 (ii) 미리 정해진 특징을 나타내는 산출 조성물을 생산하는 제조 공정에 의해 생산되고,

여기서 상기 제조 공정의 반복은, 복수의 상이한 개별 대상체들 사이에서 수행될 때, 선택적으로 인간 생물학적 샘플로부터, 복수의 상기 산출 조성물을 생산하고, 상기 복수의 산출 조성물 중 상기 산출 조성물의 상기 미리 정해진 특징은:

약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 기억 표현형의 세포의 평균 백분율;

약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 중심 기억 표현형의 세포의 평균 백분율;

약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 $CD27^+$, $CD28^+$, $CCR7^+$, $CD45RA^-$, $CD45RO^+$, $CD62L^+$, $CD3^+$, $CD95^+$, 그랜자임 B-, 및/또는 $CD127^+$ 인 세포의 평균 백분율;

약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 $CCR7^+/CD45RA^-$ 또는 $CCR7^+/CD45RO^+$ 인 세포의 평균 백분율;

약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물의 상기 조작된 $CD4^+$ T 세포, 선택적으로 $CAR+CD4^+$ T 세포

내 중심 기억 CD4+ T 세포의 평균 백분율;

약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물의 상기 조작된 CD8+ T 세포, 선택적으로 CAR+CD8+ T 세포 내 중심 기억 CD8+ T 세포의 평균 백분율; 및/또는

약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물의 상기 조작된 T 세포, 선택적으로 CAR+ T 세포 내 중심 기억 T 세포, 선택적으로 CD4+ 중심 기억 T 세포 및 CD8+ 중심 기억 T 세포의 평균 백분율;

에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 119

제1항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 투여되는 조성물은, 복수의 상이한 개별 대상체 중에 수행되는 상기 인간 생물학적 샘플들의 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 99%, 약 100%, 또는 100%에서 미리 정해진 특징, 선택적으로 상기 산출 조성물에서 CAR을 발현하는 세포의 임계 수를 나타내는 산출 조성물을 생산하는 제조 공정에 의해 생산되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 120

제1항 내지 제119항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 MM은 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종(r/r MM)인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 121

제조품으로서,

BCMA를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 유전자 조작된 세포를 포함하는 조성물, 및 제1항 내지 제120항 중 어느 한 항의 방법에 따라 상기 세포의 조성물을 투여하기 위한 지침을 포함하는, 제조품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 02월 12일에 출원된 미국 가출원 제62/975,731호(제목 “BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 T 세포 조성물 및 이의 방법 및 용도”)의 우선권을 주장하고, 이의 내용들은 그 전체가 참조로 포함된다.

[0003] 서열 목록의 참조 포함

[0004] 본 출원은 전자 형식의 서열 목록과 함께 제출된다. 서열 목록은 2021년 2월 10일에 생성된 735042023540SEQLIST.txt라는 제목의 파일로 제공되며 이의 크기는 184 킬로바이트이다. 서열 목록 내 전자 형식의 정보는 그 전체가 참조로 포함된다.

[0005] 본 개시 내용은 일부 측면에서 다발성 골수종(multiple myeloma, MM)과 같은 질병 및 병태를 가진 대상체를 치료하기 위해 세포들의 조성물의 투여를 포함하는 입양 세포 요법, 및 그와 관련된 방법, 조성물, 용도 및 제조품에 관한 것이다.

배경 기술

[0006] 질병 및 병태를 치료하기 위한 다양한 면역 요법 및/또는 세포 요법 방법이 이용 가능하다. 예를 들어, 입양 세포 요법(다른 입양 면역 세포 및 입양 T 세포 요법뿐만 아니라 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor, CAR) 및/또는 다른 재조합 항원 수용체와 같은 관심 질병 또는 장애에 특이적인 키메라 수용체를 발현하는 세포의 투여를 수반하는 것을 포함)은 암 또는 기타 질병 또는 장애의 치료에 유리할 수 있다. 개선된 접근법이 필요하다. 상기 필요를 충족시키는 방법, 용도 및 제조품이 제공된다.

발명의 내용

[0007] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(B cell maturation antigen, BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor, CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이다.

[0008] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 약 1:2.5 내지 5:1의 비로 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 $CD3^{+}$ 세포이다.

[0009] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이고; 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0010] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이고; 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 이고/거나 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 이다.

[0011] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이고; 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(integrated vector copy number, iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.9 미만이다.

[0012] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를

포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이고; 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 2배체 게놈 당 (약) 0.4개 카피 내지 2배체 게놈 당 (약) 2.0개 카피(수치 포함)이다.

[0013] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 50×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 70×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 160×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함한다.

[0014] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 40×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이다.

[0015] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 약 1:2.5 내지 5:1의 비로 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 $CD3^{+}$ 세포이다.

[0016] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 10×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이다.

[0017] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이고; 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0018] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 100×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이고; 상기 조성물

중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^+CCR7^+$ 이고/거나 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다.

[0019] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 20×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^+$ 세포이고; 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0020] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^+$ 세포이고; 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.9 미만이다.

[0021] 일 측면에서, 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포를 포함하고; 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^+$ 세포이고; 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 2배체 게놈 당 (약) 0.4개 카피 내지 2배체 게놈 당 (약) 2.0개 카피(수치 포함)이다.

[0022] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포를 약 1:2.5 내지 약 5:1의 비로 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 40×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함한다.

[0023] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포를 약 1:2 내지 약 4:1, 약 1:1.5 내지 약 2:1, 또는 (약) 1:1의 비로 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포 및 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포를 약 5:1 내지 약 2:1, 약 4:1 내지 약 2:1, 약 3:1 내지 약 2:1, (약) 5:1, (약) 4:1, (약) 3:1, 또는 (약) 2:1의 비로 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 10×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 10×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 30×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 40×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 10×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 60×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포

함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물은 (약) 160×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함할 수 있다.

[0024] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 $CD3^+$ 세포이다.

[0025] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 91%, 적어도 또는 적어도 약 92%, 적어도 또는 적어도 약 93%, 적어도 또는 적어도 약 94%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 또는 적어도 또는 적어도 약 96%는 $CD3^+$ 세포이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 2% 내지 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 5% 내지 (약) 10%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 10% 내지 (약) 15%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 15% 내지 (약) 20%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 20% 내지 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 5%, (약) 10%, (약) 15%, (약) 20%, (약) 25%, 또는 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 일부 구현예에서, 상기 세포자멸사의 표지자는 아넥신 V이다. 일부 구현예에서, 상기 세포자멸사의 표지자는 활성 카스파제 3이다.

[0026] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0027] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 80% 내지 (약) 85%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 85% 내지 (약) 90%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 90% 내지 (약) 95%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 95% 내지 (약) 99%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0028] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 CAR^+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이트-유사 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 임의의 구현예의 일부에서, 나이트-유사 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 상기 표지자는 CD45RA, CD27, CD28, 및 CCR7로 구성된 군에서 선택된다.

[0029] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 CAR^+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CCR7^+CD45RA^+$, $CD27^+CCR7^+$, 또는 $CD62L^-CCR7^+$ 에서 선택되는 표현형을 갖는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 80% 내지 (약) 85%, (약) 85% 내지 (약) 90%, (약) 90% 내지 (약) 95%, 또는 (약) 95% 내지 (약) 99%는 $CCR7^+CD45RA^+$, $CD27^+CCR7^+$, 또는 $CD62L^-CCR7^+$ 에서 선택되는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 80%, (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 $CCR7^+CD45RA^+$, $CD27^+CCR7^+$, 또는 $CD62L^-CCR7^+$ 에서 선택되는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 80%, (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0030] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T

세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0031] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0032] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는, $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0033] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는, $CD27^+CCR7^+$ 인 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형이다.

[0034] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이브-유사 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 임의의 구현예의 일부에서, 나이브-유사 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 상기 표지자는 $CD45RA$, $CD27$, $CD28$, 및 $CCR7$ 로 구성된 군에서 선택된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CCR7^+CD45RA^+$, $CD27^+CCR7^+$, 및/또는 $CD62L^-CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 80% 내지 (약) 85%, (약) 85% 내지 (약) 90%, (약) 90% 내지 (약) 95%, 또는 (약) 95% 내지 (약) 99%는 $CCR7^+CD45RA^+$, $CD27^+CCR7^+$, 및/또는 $CD62L^-CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 80%, (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 $CCR7^+CD45RA^+$, $CD27^+CCR7^+$, 및/또는 $CD62L^-CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상

기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 (약) 80%, (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다.

[0035] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD4^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는 $CCR7^+CD45RA^+$ 또는 $CCR7^+CD45RA^-$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CD8^+CAR^+ T$ 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는 $CD27^+CCR7^+$ 이다.

[0036] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율(fraction)은 평균적으로 (약) 0.9 미만이다.

[0037] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.9 내지 (약) 0.8이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율(fraction)은 평균적으로 (약) 0.8 미만이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.8 내지 (약) 0.7이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.7 내지 (약) 0.6이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.6 내지 (약) 0.5이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.5 내지 (약) 0.4이다.

[0038] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 $CAR^+ T$ 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.4개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)이다.

- [0039] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.8개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.8개 카피 내지 2배체 게놈 당 1.0개 카피(수치 포함)이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 1.0개 카피 내지 2배체 게놈 당 1.5개 카피(수치 포함)이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 1.5개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)이다.
- [0040] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 적어도 3회의 선행 항골수종 치료 계획을 받았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 자가 줄기세포 이식(ASCT); 면역 조절제; 프로테아좀 억제제; 및 항-CD38 제제 중에서 선택된, 단, 상기 대상체는 상기 요법들 중 하나 이상에 대해 후보가 아니거나 사용이 금지된 것이 아닌 한, 3개 이상의 요법, 선택적으로 4개 이상의 선행 요법을 받았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는, 선택적으로 자가 줄기세포 이식(ASCT); 면역 조절제 및 프로테아좀 억제제(어느 하나 단독으로 또는 병용하여); 및 항-CD38 제제 중에서 선택된, 3개 이상의 요법, 선택적으로 4개 이상의 선행 요법을 받았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 다음 요법들: 자가 줄기세포 이식(ASCT); 면역 조절제 및 프로테아좀 억제제를 포함하는 계획; 및 항-CD38 제제 중 3개 모두를 받았다.
- [0041] 임의의 구현예의 일부에서, 조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 다음의 항골수종 치료 계획들: 자가 줄기세포 이식(ASCT); 면역 조절제 및/또는 프로테아좀 억제제(어느 하나 단독으로 또는 병용하여); 및 항-CD38 제제 중 3개 모두를 받았다. 임의의 구현예의 일부에서, 골수 이식과 함께 또는 골수 이식 없이 그리고 유지 요법과 함께 또는 유지 요법 없이 유도(induction)는 선행 항골수종 치료 계획의 수를 판정하기 위한 하나의 요법으로 고려된다.
- [0042] 임의의 구현예의 일부에서, 조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 상기 지난 항골수종 치료 계획에 대해 불응성이다. 임의의 구현예의 일부에서, 불응성 골수종은 상기 지난 항-골수종 치료 계획으로 치료를 완료하고, 12개월 동안 또는 그 이내에, 최종 투여량으로부터 측정된, 문서화된 진행성 병변으로서 정의된다. 임의의 구현예의 일부에서, 불응성 골수종은 상기 지난 항-골수종 치료 계획으로 치료를 완료하고, 60일 동안 또는 그 이내에, 최종 투여량으로부터 측정된, 문서화된 진행성 병변으로서 정의된다.
- [0043] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 면역 조절제는 탈리도마이드, 레날리도마이드, 및 포말리도마이드 중에서, 단독으로 또는 병용으로, 선택된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 프로테아좀 억제제는 보르테조미, 카필조미, 및 익사조미 중에서, 단독으로 또는 병용으로, 선택된다.
- [0044] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 면역 조절제 및/또는 프로테아좀 억제제를 포함하는 상기 항골수종 치료 계획으로, 상기 요법에 대한 최상의 반응이 진행성 병변이 아닌 한, 적어도 1회의 완전한 치료 주기를 거쳤다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 면역 조절제 및/또는 프로테아좀 억제제를 포함하는 상기 항골수종 치료 계획으로, 상기 요법에 대한 최상의 반응이 진행성 병변이 아닌 한, 적어도 2회의 연속 치료 주기를 거쳤다.
- [0045] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 항-CD38 제제는 항-CD38 항체이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 항-CD38 제제는 다라투무맙(daratumumab)이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 항-CD38 제제는 병용 요법의 일부로 또는 단일요법으로 사용된다.
- [0046] 임의의 구현예의 일부에서, 조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물의 투여 시, 상기 대상체는 형질 세포성 백혈병(PCL)의 병력이 있거나 이에 대해 활성이 있지 않았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 적어도 3회 또는 적어도 4회의 선행 항골수종 치료 계획 이후 재발했거나 불응성이 되었다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 다발성 골수종 진단으로 대략 4년 또는 2년 내지 15년 또는 2년 내지 12년의 시간을 고생하였다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 약 10개 또는 3개 내지 15개 또는 4개 내지 15개의 선행 항골수종 치료 계획을 받았었다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 보르테조미, 카필조미, 레날리도마이드, 포말리도마이드 및/또는 항-CD38 단클론 항체에 대해 불응

성이었거나 반응하지 않았었다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 선행 자가 줄기세포 이식을 받았었다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 ASCT에 대한 부적격, 선택적으로 연령 또는 다른 문서화된 이유로 인한 부적격으로 인해, 선행 자가 줄기세포 이식(ASCT)을 받지 않았었다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 IMWG 고위험 세포 유전학적 특성을 가지고 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 MM, 형질 세포성 백혈병, 발덴스트롬 거대글로불린혈증, POEMS(다발성 신경병증, 장기종대, 내분비병증, 단백론 단백질, 피부 변화) 증후군, 및/또는 임상적으로 유의한 아밀로이드증의 중추신경계 침습이 없다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 선행 CAR T 세포 또는 유전자 변형 T 세포 요법을 받지 않았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 항-BCMA 단백론 항체 또는 이중특이성 항체와 같은 선행 BCMA-표적화 요법을 받지 않았다.

[0047] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물을 제조하기 위해 상기 대상체로부터 백혈구 성분채집술 샘플을 수득하는 단계를 더 포함한다.

[0048] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 코르티코스테로이드의 치료 용량을, 선택적으로 상기 백혈구 성분채집술의 시점 전 (약) 14일 이내에, 받지 않았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 백혈구 성분채집술 4주 이내에 면역 억제 요법을 받지 않았으며, 선택적으로 여기서 상기 면역 억제 요법은 칼시뉴린 억제제, 메토트렉세이트 또는 다른 화학 요법제, 미코페놀레이트, 라파마이신, 면역 억제 항체들(예컨대, 항-TNF, 항-IL6, 또는 항-IL6R)을 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 상기 백혈구 성분채집술의 시점 전 (약) 6개월 이내에, 자가 줄기세포 이식을 받지 않았다.

[0049] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 선행 요법에 반응하여 완전 관해(CR)를 달성하지 못했다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 선행 요법에 반응하여 객관적 반응(부분 반응(PR) 또는 더 나아짐)을 달성하지 못했다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 0 또는 1의 ECOG PS(Eastern Cooperative Oncology Group 수행도)를 가지고 있거나 가진 것으로 확인되었다.

[0050] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 세포외 항원 결합 도메인-상기 세포외 항원 결합 도메인은: 서열 번호: 116에 제시된 서열 내에 함유된 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-H2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-H3)을 포함하는 가변 중쇄(V_H) 및 서열 번호: 119에 제시된 서열 내에 함유된 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-L2) 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-L3)을 포함하는 가변 경쇄(V_L); 각각 서열 번호: 97, 101 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 각각 서열 번호: 96, 100 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 각각 서열 번호: 95, 99 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 각각 서열 번호: 94, 98 및 102에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 104, 106 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 또는 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함함-; 및 IgG4/2 키메라 힌지 또는 변형된 IgG4 힌지; IgG2/4 키메라 CH_2 영역; 및 IgG4 C_{H3} 영역;을 포함하는 스페이서-이는 선택적으로 약 228개 아미노산 길이이고, 선택적으로 상기 스페이서는 서열 번호: 174에 제시됨-; 및 막관통 도메인-선택적으로 인간 CD28 유래 막관통 도메인-; 및 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 세포질 신호전달 도메인 및 T 세포 공자극 분자의 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 신호전달 부분을 포함하는 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 스페이서는 서열 번호: 174에 제시된 스페이서이다.

[0051] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 V_H 는 서열 번호: 116의 아미노산 서열이거나 이를 포함하고; 상기 V_L 은 서열 번호: 119의 아미노산 서열이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 세포외 항원 결합 도메인은 scFv를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 V_H 및 상기 V_L 은 가요성 링커에 의해 연결된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 scFv는 아미노산 서열 GGGGSGGGSGGGGS(서열 번호: 1)를 포함하는 링커를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 V_H 는 상기 V_L 에 대한 카복시 말단이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 scFv는 아미노산 서열 SRGGGSGGGSGGGGSLEMA(서열 번호: 255)를 포함하는 링커를 포함한다.

[0052] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 세포외 항원 결합 도메인은 서열 번호: 114의 아미노산 서열 또는 서열 번호:

114의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 세포의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0053] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 세포의 항원 결합 도메인을 암호화하는 핵산은 포함 서열 번호: 113의 뉴클레오타이드의 서열; 이에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드의 서열; 또는 선행 서열들 중 하나의 퇴화 서열;을 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 세포의 항원 결합 도메인을 암호화하는 상기 핵산은 서열 번호: 115의 뉴클레오타이드의 서열을 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 V_H 는 상기 V_L 에 대한 아미노 말단이다.

[0054] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 세포질 신호전달 도메인은 서열 번호: 143에 제시된 서열 또는 서열 번호: 143에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 공자극 신호전달 영역은 CD28, 4-1BB 또는 ICOS의 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 신호전달 부분을 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 공자극 신호전달 영역은 4-1BB, 선택적으로 인간 4-1BB의 세포내 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 공자극 신호전달 영역은 서열 번호: 4에 제시된 서열 또는 서열 번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 공자극 신호전달 영역은 상기 막관통 도메인과 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 상기 세포질 신호전달 도메인 사이에 존재한다.

[0055] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 막관통 도메인은 인간 CD28 유래 막관통 도메인이거나 이를 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 막관통 도메인은 서열 번호: 138에 제시된 서열 또는 서열 번호: 138에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함할 수 있다.

[0056] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 그 N 말단에서 C 말단까지 상기 세포의 항원 결합 도메인, 상기 스페이서, 상기 막관통 도메인 및 상기 세포내 신호전달 영역을 순서대로 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 세포의 항원 결합 도메인-상기 세포의 항원 결합 도메인은: 서열 번호: 116에 제시된 서열 내에 함유된 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-H2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-H3)을 포함하는 가변 중쇄(V_H) 및 서열 번호: 119에 제시된 서열 내에 함유된 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-L2) 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-L3)을 포함하는 가변 경쇄(V_L)를 포함함; 변형된 IgG4 힌지를 포함하는 스페이서; IgG2/4 키메라 C_H2 영역; 및 약 228개 아미노산 길이인 IgG4 C_H3 영역; 인간 CD28 유래 막관통 도메인; 및 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 세포질 신호전달 도메인 및 4-1BB의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;을 포함할 수 있다.

[0057] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 서열 번호: 114에 제시된 서열 또는 서열 번호: 114의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; 서열 번호: 174에 제시된 서열 또는 서열 번호: 174에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 스페이서; 서열 번호: 138에 제시된 서열 또는 서열 번호: 138에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 막관통 도메인; 및 서열 번호: 143에 제시된 서열 또는 서열 번호: 143에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 세포질 신호전달 및 서열 번호: 4에 제시된 서열 또는 서열 번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;을 포함할 수 있다.

[0058] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 서열 번호: 114에 제시된 서열을 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; 서열 번호: 174에 제시된 서열을 포함하는 스페이서; 서열 번호: 138에 제시된 서열을 포함하는 막관통 도메인; 및 서열 번호: 143에 제시된 서열을 포함하는 세포질 신호전달 및 서열 번호: 4에 제시된 서열을 포함하는 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;을 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 서열 번호: 114에 제시된 세포의 항원 결합 도메인; 서열 번호: 174에 제시된 스페이서; 서열 번호: 138에 제시된 막관통 도메인; 및 서열 번호: 143에 제시된 세포질 신호전달 및 서열 번호: 4에 제시된 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;을 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 서열 번호: 19에 제시된 서열을 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR의 서열은 서열 번호: 19에 제시된다.

[0059] 임의의 구현예의 일부에서, 인간 세포에서, 선택적으로 인간 T 세포에서 상기 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 발현 이후, 상기 폴리뉴클레오타이드로부터 전사된 RNA, 선택적으로 메신저 RNA(mRNA)는 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%의 RNA 동질성을 나타낸다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 서열 번호:

13에 제시된 서열 또는 이에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CAR은 서열 번호 13에 제시된 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다.

[0060] 임의의 구현예의 일부에서, 표면 BCMA를 발현하는 세포에 노출 후 상기 세포의 항원 결합 도메인 및/또는 상기 CAR의 결합 또는 CAR의 기능 또는 활성을 나타내는 측정값이 용해성(soluble) 또는 탈피형(shed form) BCMA의 존재 하에 감소 또는 차단되지 않거나 또는 실질적으로 감소 또는 차단되지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 용해성 또는 탈피형 BCMA의 농도 또는 양은 상기 대상체 또는 다발성 골수종 환자의 혈청 또는 혈액 또는 혈장에 또는 평균적으로 다발성 골수종 환자 집단에 존재하는 농도 또는 양에 해당하거나, 또는 상기 용해성 또는 탈피형 BCMA의 농도 또는 양에서 기준 항-BCMA 재조합 수용체, 선택적으로 기준-항 BCMA CAR을 발현하는 세포에 대해 상기 결합 또는 측정치가 같은 분석에서 감소 또는 차단되거나 또는 실질적으로 감소 또는 차단된다.

[0061] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 전에, 상기 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 20 내지 40mg/m²(상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) 30mg/m²의 플루다라빈 및/또는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 200 내지 400mg/m²(상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) 300mg/m²의 시클로포스파미드의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 전에, 상기 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 20 내지 40mg/m²(상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) 30mg/m²의 플루다라빈의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여 전에, 상기 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 200 내지 400mg/m²(상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) 300mg/m²의 시클로포스파미드의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받았다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 각각 3일 동안 매일 (약) 30mg/m²(상기 대상체의 체표면적)의 플루다라빈 및 매일 (약) 300mg/m²(상기 대상체의 체표면적)의 시클로포스파미드의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받았다.

[0062] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은, 선택적으로 투여 개시 후 지정된 시점에, MM을 갖는 대상체들의 코호트(cohort)에서 대상체들 중 적어도 하나에서 또는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%에서 명시된 반응 또는 결과를 달성할 수 있고, 여기서 상기 반응은 객관적 반응(objective response, OR), 완전 반응(complete response, CR), 엄격한 완전 반응(stringent complete response, sCR), 매우 양호한 부분 반응(very good partial response, VGPR), 부분 반응(partial response, PR) 및 최소 반응(minimal response, MR)으로 구성된 군에서 선택되고/거나; 상기 반응 또는 결과는 OR이거나 이를 포함하고/거나; 상기 반응 또는 결과는 CR이거나 이를 포함한다.

[0063] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체들의 코호트는 상기 방법에 의해 치료된 대상체와 적어도 같은 수의 선행 요법, 예후 또는 예후 인자, 아형, 2차 침습 또는 기타 명시된 환자 특성 또는 특성들을 가진다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 반응 또는 결과는 (약) 3, 6, 9 또는 12개월 넘는 기간 동안 지속된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 지정된 시점 이후 (약) 3, 6, 9 또는 12개월에 판정된 반응 또는 결과는 상기 지정된 시점에 판정된 반응 또는 결과와 비교하여 동일하거나 개선된다.

[0064] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 반응 또는 결과는 신경 독성의 부재, 사이토카인 방출 증후군(CRS)의 부재, 및/또는 대식세포 활성화 증후군/혈구탐식성 림프조직구성식증(MAS/HLH)의 부재이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 선택적으로 투여 개시 후 지정된 시점에, MM을 갖는 대상체들의 코호트(cohort)에서 대상체들 중 적어도 하나에서 또는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%에서 명시된 독성 결과를 초래하지 않는다.

[0065] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 명시된 독성 결과는 신경 독성, 사이토카인 방출 증후군(CRS), 및/또는 대식세포 활성화 증후군/혈구탐식성 림프조직구성식증(MAS/HLH)이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 명시된 독성 결과는 신경 독성이고, 신경 독성은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 60%, 70% 또는 80%에서 초래되지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 명시된 독성 결과는 3급 이상 또는 4급 이상 신경 독성이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 명시된 독성 결과는 3급 이상의 신경 독성이고, 3급 이상 신경 독성은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95%에서 초래되지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 명시된 독성 결과는 사이토카인 방출 증후군(CRS)이고, 선택적으로 3급 이상, 또는 4급 이상의 사이토카인 방출 증후군(CRS)이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 CRS는 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대

상체들 중 적어도 15%, 20%, 25% 또는 30%에서 초래되지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 지정된 시점은 상기 투여 개시 후 (약) 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 12일, 13일, 14일 또는 15일 또는 그 이내이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 지정된 시점은 상기 투여 개시 후 (약) 1개월, 3개월, 6개월, 9개월, 또는 12개월이다.

[0066] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 어떤 사이토카인 방출 증후군(CRS)도 초래하지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 중증 사이토카인 방출 증후군(CRS)을 초래하지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 어떤 신경 독성도 초래하지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 중증 신경 독성을 초래하지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 중증 CRS 및 중증 신경 독성을 초래하지 않는다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 MM을 갖는 대상체들의 코호트에서 대상체들 중 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%에서 중증 CRS 및 중증 신경 독성을 초래하지 않는다. 임의의 상기 구현예에서, 상기 중증 CRS는 3급 이상, 4급 이상 또는 5급 CRS이다. 임의의 상기 구현예에서, 상기 중증 신경 독성은 3급 이상, 4급 이상 또는 5급이다.

[0067] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물의 투여는 통원환자(outpatient) 기준으로, 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않는 또는 감소되지 않은 발열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 수행된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물의 투여는, 상기 대상체가 병원에 입원하지 않고/거나 병원에 하루 밤 숙박하지 않고, 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않거나 감소되지 않은 발열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 수행된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 조성물의 투여는, 상기 병원에 입원하거나 병원에 하루 밤 숙박할 필요 없이, 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않거나 감소되지 않은 발열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 수행된다.

[0068] 임의의 구현예의 일부에서, 조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물은 비경구적으로, 선택적으로 정맥내 투여된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 대상체는 인간 대상체이다.

[0069] 임의의 구현예의 일부에서, 조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물은: (i) 1차 T 세포를 포함하는 투입 조성물을 T 세포를 자극하는 조건 하에 복수의 스트렙타비딘 뮤테인 분자를 포함하는 올리고머성 입자 시약을 포함하는 자극 시약과 함께 노출시키고, 그에 의해 자극된 집단을 생성하는 단계—상기 올리고머성 입자 시약은 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 제1 제제 및 항-CD28 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 제2 제제를 포함함—; (ii) 상기 자극된 집단의 T 세포 내로 BCMA를 표적화하는 CAR을 암호화하는 이중 폴리뉴클레오타이드를 도입하고, 그에 의해 형질전환된 세포의 집단을 생성하는 단계; (iii) 상기 형질전환된 세포의 집단을 최대 96시간 동안 인큐베이션하는 단계; 및 (iv) 상기 형질전환된 세포의 집단의 T 세포를 수확하고, 이에 의해 조작된 세포의 조성물을 생산하는 단계—상기 수확은 상기 자극 시약에 노출이 개시된 후 24 내지 120시간 시점에(수치 포함) 수행됨—를 포함하는 제조 공정에 의해 생산된다. 일부 구현예에서, 상기 투입 조성물은 상기 대상체로부터 선택된, 예컨대 상기 대상체 유래 혈액 또는 성분채집술(예를 들어, 백혈구 성분채집술) 샘플 유래 CD3 T 세포 또는 CD4 및 CD8 T 세포에 대해 면역 친화도 기반 선택에 의해 농축된, 자가 T 세포를 포함한다.

[0070] 임의의 구현예의 일부에서, 조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물은 1차 T 세포를 포함하는 투입 조성물을 복수의 아비딘, 스트렙타비딘, 아비딘 뮤테인, 또는 스트렙타비딘 뮤테인 분자들을 포함하는 올리고머성 입자 시약을 포함하는 자극 시약과 T 세포를 자극하는 조건에서 노출시키고, 이에 의해 자극된 집단을 생성하는 단계를 포함하는 제조 공정에 의해 생산되고, 여기서 상기 자극 시약은 TCR 복합체의 하나 이상의 성분의 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인 및 하나 이상의 공자극 분자의 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인을 활성화할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 제조 공정은 상기 자극된 집단의 T 세포 내로 BCMA를 표적화하는 CAR을 암호화하는 이중 폴리뉴클레오타이드를 도입하고, 그에 의해 형질전환된 세포의 집단을 생성하는 단계를 더 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 제조 공정은 상기 형질전환된 세포의 집단을 최대 96시간 동안 인큐베이션하는 단계를 더 포함할 수 있다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 인큐베이션하는 단계는 하나 이상의

재조합 사이토카인이 결합된 기본 배지에서 수행된다.

[0071] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 올리고머성 입자 시약은 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 제1 제제 및 항-CD28 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 제2 제제를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Fab이고 상기 항-CD28 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Fab이다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 제1 제제 및 상기 제2 제제 각각은 상기 제1 제제 및 상기 제2 제제를 상기 올리고머성 입자 시약에 가역적으로 결합하는 스트렙타비딘-결합 펩타이드를 포함하고, 선택적으로 상기 스트렙타비딘-결합 펩타이드는 서열 번호: 266 내지 270 중 어느 하나에 제시된 아미노산의 서열을 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 스트렙타비딘 뮤테인 분자는 아미노산 잔기 Val144-Thr45-Ala46-Arg47 또는 Ile44-Gly45-Ala46-Arg47을 포함하는 스트렙타비딘 뮤테인의 4량체이고, 선택적으로 상기 스트렙타비딘 뮤테인은 서열 번호: 257, 272, 275, 277, 279, 273 또는 276 중 어느 하나에 제시된 서열을 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 올리고머성 입자 시약은 1,000 내지 5,000개 스트렙타비딘 뮤테인 4량체(수치 포함)를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 방법은 상기 세포를 수확하기 전에 상기 인큐베이션 후에 또는 동안에 비오틴 또는 비오틴 유사체를 첨가하는 단계를 더 포함한다.

[0072] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 제조 공정은 상기 형질전환된 집단의 T 세포를 수확하고, 이에 의해 조작된 세포의 조성물을 생산하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 수확은 상기 자극 시약에 노출이 개시된 후 24 내지 120시간 시점에(수치 포함) 수행된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 수확은 상기 자극 시약에 노출이 개시된 후 48 내지 120시간 시점에(수치 포함) 수행된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 수확은 상기 계능에서 통합 백터가 검출되는 시점에 하지만 2배체 계능 당 안정적 통합 백터 카피수(iVCN)를 달성하기 전에 수행된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 수확은 수확 시 생존 세포의 총 수가 상기 자극된 집단의 총 생존 세포의 수의 (약) 3배를 넘기 전 시점에 수행된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 수확은 수확 시 생존 세포의 총 수가 상기 자극된 집단의 총 생존 세포의 수의 (약) 3배이거나, (약) 2배이거나, 또는 이와 동일하거나 거의 동일한 시점에 수행된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 수확은, $CD27^{+}CCR7^{+}$ 세포의 백분율이 집단에서 총 T 세포, 집단에서 총 $CD3^{+}$ T 세포, 집단에서 총 $CD4^{+}$ T 세포, 또는 집단에서 총 $CD8^{+}$ T 세포, 또는 이들의 CAR-발현 세포 중 (약) 50%보다 큰 시점에 수행된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 수확은, $CD45RA^{+}CCR7^{+}$ 및 $CD45RA^{-}CCR7^{+}$ 세포의 백분율이 집단에서 총 T 세포, 집단에서 총 $CD3^{+}$ T 세포, 집단에서 총 $CD4^{+}$ T 세포, 또는 집단에서 총 $CD8^{+}$ T 세포, 또는 이들의 CAR-발현 세포 중 (약) 60%보다 큰 시점에 수행된다.

[0073] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여되는 조성물 내 세포는 미리 정해진 특징을 나타내는 산출 조성물을 생산하는 제조 공정에 의해 생산되고, 여기서 상기 제조 공정의 반복은 복수의 상이한 개별 대상체들 사이에서 수행될 때, 선택적으로 인간 생물학적 샘플로부터, 복수의 상기 산출 조성물을 생산하고, 여기서 상기 복수의 산출 조성물 중 상기 산출 조성물의 상기 미리 정해진 특징은: 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 기억 표현형의 세포의 평균 백분율; 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 중심 기억 표현형의 세포의 평균 백분율; 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 $CD27^{+}$, $CD28^{+}$, $CCR7^{+}$, $CD45RA^{-}$, $CD45RO^{+}$, $CD62L^{+}$, $CD3^{+}$, $CD95^{+}$, 그랜자임 B-, 및/또는 $CD127^{+}$ 인 세포의 평균 백분율; 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 $CCR7^{+}/CD45RA^{-}$ 또는 $CCR7^{+}/CD45RO^{+}$ 인 세포의 평균 백분율; 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물의 상기 조작된 $CD4^{+}$ T 세포, 선택적으로 CAR+ $CD4^{+}$ T 세포 내 중심 기억 $CD4^{+}$ T 세포의 평균 백분율; 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물의 상기 조작된 T 세포, 선택적으로 CAR+ T 세포 내 중심 기억 T 세포, 선택적으로 $CD4^{+}$ 중심 기억 T 세포 및 $CD8^{+}$ 중심 기억 T 세포의 평균 백분율에서 선택된다.

[0074] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 투여되는 조성물은, 복수의 상이한 개별 대상체 중에 수행되는 상기 인간 생물

학적 샘플들의 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 99%, 약 100%, 또는 100%에서 미리 정해진 특징, 선택적으로 상기 산출 조성물에서 CAR을 발현하는 세포의 임계 수를 나타내는 산출 조성물을 생산하는 제조 공정에 의해 생산된다. 임의의 구현예의 일부에서, 상기 유전자 조작된 세포를 포함하는 조성물은 상기 제조 공정으로부터 유래된 잔류 비드를 함유하지 않는다.

[0075] 임의의 구현예의 일부에서, 상기 MM은 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종(r/r MM)이다.

[0076] BCMA를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 유전자 조작된 세포를 포함하는 조성물, 및 본원에 제공된 방법들 중 임의의 방법에 따라 상기 세포의 조성물을 투여하기 위한 지침을 포함하는, 제조품이 또한 본원에 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0077] 도 1은 상이한 공여체 유형들(기준, 환자)을 사용하는 비증폭 조작 공정들로부터 생산된 T 세포 조성물들의 세포 순도의 유세포 분석에 의해 측정된 예시적인 정량화를 도시한다. 세포를 항-BCMA CAR을 발현하도록 조작하거나(BCMA) 모의 형질도입하였다(모의). 살아있는 CD45+ 세포들 중 CD3+ 세포들의 백분율(왼쪽 패널), 살아있는 CD45+ 세포들 중 NK 세포들의 백분율(가운데 패널), 및 살아있는 CD45+ 세포들 중 CD19+ 세포들의 백분율(오른쪽 패널)을 측정하였다.

도 2 내지 도 3은 상이한 공여체 유형들(기준, 환자)을 사용하는 증폭 및 비증폭 조작 공정들에 대해 유세포 분석에 의해 측정된 세포 표현형들의 예시적인 정량화를 도시한다. 세포를 항-BCMA CAR을 발현하도록 조작하거나(BCMA) 모의 형질도입하였다(모의). 도 2는 살아있는 CD45+ 세포들 중 CD3+CD8+ 및 CD3+CD4+ 세포의 백분율(왼쪽 패널) 및 살아있는 CD45+ 세포들 중 CD8+CAR+ 및 CD4+CAR+ 세포의 백분율을 도시한다. 도 3은 CD4+ 세포 대 CD8+ 세포의 비, 및 CD4+CAR+ 세포 대 CD8+CAR+ 세포의 비를 도시한다.

도 4는 상이한 공여체 유형들(기준, 환자)을 사용하는 비증폭 조작 공정들로부터 생산된 T 세포 조성물들의 세포 생존력의 유세포 분석에 의해 측정된 예시적인 정량화를 도시한다. 세포를 항-BCMA CAR을 발현하도록 조작하거나(BCMA) 모의 형질도입하였다(모의). CD3+ 세포들 중 aCas3+ 세포의 백분율을 알아냈다.

도 5a는 증폭 공정(○) 또는 비증폭 공정(●)을 사용하여 CAR을 발현하도록 조작된, 상이한 인간 공여체들 유래 1차 T 세포에서 생산된 세포 조성물에서 표준 VCN(PFGE를 거치지 않음) 및 iVCN(PFGE를 거침)으로 평가한 총 세포 중 세포당 카피수 사이의 예시적인 관계를 도시한다. 도 5b 및 5c는 표준 VCN(도 5b) 또는 iVCN(도 5c)로 평가한 세포 조성물에서 세포당 카피수와 유세포 분석으로 평가한 생존 CD45+ 세포들 중 CAR-발현 CD3+ 세포의 백분율(%CD3+CAR+)로 표시되는 CAR의 표면 발현 사이의 관계를 도시한다.

도 6a 내지 6b는 상이한 공여체 유형들(기준, 환자)을 사용하는 증폭 및 비증폭 조작 공정들로부터 기인한 세포 표현형의 예시적인 백분율을 도시한다. 세포를 항-BCMA CAR을 발현하도록 조작하거나(BCMA) 모의 형질도입하였다(모의). 도 6a는 aCas-CD8+CAR+ 세포들 및 aCas-CD4+CAR+ 세포들 중 CD45RA+CCR7+ 세포의 예시적인 백분율(왼쪽 상단 패널), aCas-CD8+CAR+ 세포들 및 aCas-CD4+CAR+ 세포들 중 CD45RA-CCR7+ 세포의 예시적인 백분율(오른쪽 상단 패널), aCas-CD8+CAR+ 세포들 및 aCas-CD4+CAR+ 세포들 중 CD45RA-CCR7- 세포의 예시적인 백분율(왼쪽 하단 패널), 및 aCas-CD8+CAR+ 세포들 및 aCas-CD4+CAR+ 세포들 중 CD45RA+CCR7- 세포의 예시적인 백분율(오른쪽 하단 패널)을 도시한다. 도 6b는 aCas-CD8+CAR+ 세포들 및 aCas-CD4+CAR+ 세포들 중 CD27+CCR7+ 세포의 예시적인 백분율을 도시한다.

도 7은 공여체-매칭된 비증폭 공정 생성물 및 증폭 공정 생성물로부터 유래된 CAR T 세포 상에서 CD45RA 및 CCR7의 표면 발현에 의해 정의되는 T 세포 기억 표현형의 예시적인 비율을 도시한다. 건강한 공여체(HD1) 또는 다발성 골수종이 있는 3명의 환자(MM1, MM2, 또는 MM3)의 CD4+ 및 CD8+ T 세포로부터 CAR T 세포를 생산하였다.

도 8a 내지 8c는 작용성 항체로 장기간 항-BCMA CAR-의존성 자극 후 비증폭 및 증폭 공정들로부터 생성된 세포의 예시적인 시험관 내 증식 능력을 도시한다. 1명의 건강한 공여체(HD1) 또는 다발성 골수종이 있는 3명의 환자(MM1, MM2, 또는 MM3)의 CD4+ 및 CD8+ T 세포로부터 CAR T 세포를 생산하였고, 10일 동안 작용성 항체로 코팅된 마이크로비드로 자극한 후 매 2일마다 총 살아있는 세포의 수를 측정하였다. 도 8a는 매일 카운트 수를 세포의 시작 수로 나누어 계산한 증폭의 배수 변화를 도시한다. 도 8b는 생성물들(비증폭 공정 생성물; 증폭 공정 생성물; 모의) 또는 공여체들 간 비교를 위해 AUC로 변환된 CAR T 세포 카운트 수를 도시한다. 통계적 유의성을 만-휘트니 시험으로 측정하였다; * $p < 0.05$. 도 8c는 비증폭 공정 생성물 군에서 매일 배수 증폭을 공여체-매칭된 증폭 공정 생성물 값들로 나누어 계산한 각 공여체의 배수 증폭을 도시한다.

도 9a 내지 9e는 유세포 분석으로 측정된 세포내 IL-2, IFN γ , 또는 TNF 사이토카인 생산(도 9a 내지 9d) 및 공여체-매칭된 비증폭 공정 생성물 및 증폭 공정 생성물로부터 유래된 항-BCMA CAR T 세포로부터 분비된 사이토카인(도 9e)의 예시적인 정량화를 도시한다. 다발성 골수종 환자 1명 또는 건강한 공여체 2명으로부터 5시간 동안 작용성 항체로 세포를 배양한 후 CAR T 세포를 유래하였다. CD4+CAR+ 또는 CD8+CAR+ 집단 내에서 단일 사이토카인을 발현하는 CAR-양성 세포(도 9a 내지 9c) 또는 불리언 로직(Boolean logic) 게이트된 삼중-양성 세포(도 9d)의 빈도수가 제시된다. 세포를 24시간 동안 MM.1S BCMA-양성 표적 세포와 함께 배양한 후 분비된 사이토카인 농도(도 9e, 배양물 상청액에서 측정된 총 단백질 분비를 나타냄)의 다중 면역분석 정량화에 의해 사이토카인 단백질 분비를 측정하였다. 통계적 유의성을 만-휘트니법으로 평가하였다; * $p < 0.05$.

도 10a는 상이한 효과기 대 표적 비들에서 비증폭 또는 증폭 공정에 의해 조작된 항-BCMA CAR T 세포의 예시적인 세포 용해 가능성을 도시한다. 개별 암들에 대해(도 10b의 왼쪽 패널) 또는 제조 공정별로(도 10b의 오른쪽 패널, 만-휘트니 시험을 통한 통계적 유의성; * $p < 0.05$) 곡선 하 면적(AUC) 값들을 비교하였다.

도 11a 내지 11b는 비증폭 및 증폭 매칭된-공여체 조작 공정들로부터 생성된 항-BCMA CAR-T 세포 조성물들을 이용한 치료 후 시간에 따른 OPM-2 골수종 모델에서 예시적인 종양 부담 및 순환하는 CAR-T 세포 수를 도시한다. -1일째(치료 전)부터 치료 후 약 53일째까지 종양 성장이 BLI(광자/초; y축)로 표시되거나(도 11a) 각 군에 대해 BLI의 곡선 하 면적(AUC)으로부터 계산된다(도 11b). 만-휘트니 U 시험(* $p < 0.05$)을 이용하여 차이를 비교하였다.

도 12a 내지 12b는 비증폭 및 증폭 매칭된-공여체 조작 공정들로부터 생성된 항-BCMA CAR-T 세포 조성물들을 이용한 치료 후 시간에 따른 OPM-2 골수종 모델에서 예시적인 CAR T 동역학 및 순환하는 CAR-T 세포 수를 도시한다. 도 12a는 각 군에 대해 치료 후 혈액 1 μ l 당 순환하는 항-BCMA CAR T 세포 카운트를 도시한다. 도 12b는 각 군(비증폭, NE; 증폭, E)에 대해 치료 후 표시된 시점들에서 혈액 1 μ l 당 순환하는 항-BCMA CAR T 세포 카운트를 도시한다. 만-휘트니 U 시험(* $p < 0.05$)을 이용하여 차이를 비교하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0078]

BCMA가 발현되는 질병, 병태, 및 장애, 가장 구체적으로 다발성 골수종(MM)인 혈액성 악성 종양의 치료 등에서 항-BCMA 제조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는 조작된 세포 및 이의 약학 조성물 및 제형의 사용 방법 및 용도가 본원에 제공된다. 제공된 방법의 구현예들에서, 조작된 세포를 함유하는 치료용 T 세포 조성물이 MM에 걸린 대상체에게, 예를 들어 입양 T 세포 요법 등의 입양 세포 요법을 통해, 투여된다. 임의의 제공된 방법의 구체적인 구현예에서, T 세포는 BCMA에 대해 지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 이용해 조작된다. 일부 측면에서, 본 방법과 용도는 특정 대체 방법과 비교하여 예를 들어 치료받은 특정 군의 대상체에서 개선된 반응 및/또는 더 장기 지속적인 반응 또는 효능 및/또는 독성 위험 또는 기타 부작용의 감소를 제공하거나 달성한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 조작된 세포의 특정 수 또는 비례 수의 투여, 미리 정해진 특징들을 가진 세포 조성물(예를 들어, 특정 유형의 세포의 비)의 투여, 덜 분화된 세포의 특정 높은 백분율의 세포(예를 들어, 나이트-유사 또는 중심 기억 세포 또는 초기 분화 상태의 세포, 예컨대 CCR7+CD27+ 세포)의 투여, 특정 환자 집단, 예컨대 특정 환자 집단, 예컨대 특정 위험 프로필, 병기 및/또는 이전 치료 이력을 가진 환자 집단의 치료, 및/또는 이들의 조합에 의해 유리하다.

[0079]

일부 구현예에서, 본 방법 및 용도는 입양 세포 요법에서 MM에 의해 발현되는, 이와 관련된 및/또는 이에 특이적인 BCMA 및/또는 유래된 세포 유형을 인식하는, 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 키메라 수용체인 것이 일반적인, 유전자 조작된 (제조합) 세포 표면 수용체를 발현하는 T 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 세포는 일반적으로 투여를 위해 제형화된 조성물로 투여되고; 본 방법은 일반적으로 대상체에게 세포의 하나 이상의 용량을 투여하는 단계를 포함하고, 이 용량(들)은 세포의 특정 수 또는 비례 수의 세포 또는 조작된 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 조성물 내의 BCMA-지시된 CAR+ 조작된 세포는 CD4 대 CD8 T 세포와 같이 조성물 내의 2개 이상의 아형의 정의된 비 또는 조성물을 포함한다. 구체적인 구현예에서, 제공된 방법에서 사용 또는 투여를 위한 세포 조성물은 (i) 탈진된 세포 및/또는 탈진과 관련된 표지자 또는 표현형을 나타내는 세포의 낮은 백분율(예를 들어, 40% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 또는 10% 미만)을 함유하고/거나; (ii) 나이트-유사 T 세포, 중심 기억 T 세포 또는 수명이 긴 기억 T 세포와 같은 기억-유사 T 세포의 비교적 높은 백분율(예를 들어, 50% 초과, 60% 초과, 70% 초과, 80% 초과 또는 90% 초과)을 함유하는, BCMA-지시된 CAR을 발현하도록 조작된 1차 T 세포를 포함한다. 제공된 구현예에서, 조성물 및 제공된 방법의 특징은 탈진된 세포 및/또는 탈진과 관련된 표지자 또는 표현형을 나타내는 세포 및/또는 탈진과 관련된 표현형을 나타내는 더 높은 수의 세포를 함유하고/거나 나이트-유사 T 세포, 중심 기억 T 세포 또는 수명이 긴 기억 T 세포와 같은 중심 T 세포의 더 낮은

백분율을 함유하는, 다른 BCMA-지시된 CAR T 세포 요법의 투여를 포함하는 방법과 비교하여 개선된 또는 향상된 생존, 증폭, 지속성, 및/또는 항-종양 활성을 가져온다. 제공된 구현예에서, 조성물 및 제공된 방법의 특징은 탈진된 세포 및/또는 탈진과 관련된 표지자 또는 표현형을 나타내는 세포 및/또는 탈진과 관련된 표현형을 나타내는 더 높은 수의 세포를 함유하고/거나 나이브-유사 T 세포, 중심 기억 T 세포 또는 수명이 긴 기억 T 세포와 같은 중심 T 세포의 더 낮은 백분율을 함유하는, 다른 BCMA-지시된 CAR T 세포 요법의 투여를 포함하는 방법과 비교하여 개선된 치료 효능, 예를 들어 완전 반응(CR)을 달성하는 환자의 증가된 백분율을 가져온다. 제공된 방법에서, 조성물 및 제공된 방법의 특징은 탈진된 세포 및/또는 탈진과 관련된 표지자 또는 표현형을 나타내는 세포 및/또는 탈진과 관련된 표현형을 나타내는 더 높은 수의 세포를 함유하고/거나 나이브-유사 T 세포, 중심 기억 T 세포 또는 수명이 긴 기억 T 세포와 같은 기억 유사 T 세포의 더 낮은 백분율을 함유하는, 다른 BCMA-지시된 CAR T 세포 요법의 투여를 포함하는 방법과 비교하여 치료 반응(예컨대, CR)의 개선된 임상적 지속성, 예를 들어 요법 개시로부터 일정 시간 후 지속되는 반응을 가져온다. 구체적인 구현예에서, 제공된 방법에서 제공된 BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물의 사용 또는 투여는 기준 BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물 (예를 들어, 동일한 또는 유사한 CAR로 조작됨, 예컨대 동일한 항원 결합 도메인으로 조작됨)의 용량보다 2배 이상 더 낮은, 예컨대 5배 또는 10배 더 낮은 세포의 용량으로 달성될 수 있지만, 여기서 기준 BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물은 탈진된 세포 및/또는 탈진과 관련된 표지자 또는 표현형을 나타내는 세포 및/또는 탈진과 관련된 표현형을 나타내는 더 높은 수의 세포를 함유하고/거나 나이브-유사 T 세포, 중심 기억 T 세포 또는 수명이 긴 기억 T 세포와 같은 기억 유사 T 세포의 더 낮은 백분율을 함유한다. 일부 구현예에서, 기준 BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물은 세포를 생산하는 공정 동안 세포의 증식 또는 세포의 집단 배가(예를 들어, 공정의 시작과 비교하여 집단 내 세포의 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상의 배가)를 초래하는 것과 같은, 증폭을 위한 조건 하에서 세포를 육성하는 단계를 수반하는 공정들에 의해 생체외에서 생산되는 조성물이다.

[0080] 일부 구현예에서, 제공된 방법 및 용도에서 사용하기 위한 BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물은 세포를 증폭 또는 증식시키기 위해 설계된 증폭 조건 하에서 세포를 육성하는 단계를 포함하지 않는 비교적 짧은 공정에 의해 생산된다. CAR을 발현하는 조작된 T 세포를 생성하는 것을 포함하여, 유전자 조작된 T 세포 집단을 함유하는 조성물을 생성하기 위해 상이한 공정들이 이용 가능하며, 이는 전형적으로 세포의 증식을 증폭 또는 증가시키기 위해 세포를 육성하거나 육성하는 목적을 위해 설계된 단계를 포함한다. 그러나, 구체적인 측면에서, 이 공정들 중 일부는 조작된 세포를 생성하기 위해 긴 시간 또는 상대적으로 긴 시간량을 필요로 할 수 있다. 또한, 여러 측면에서, 일부 기존 공정들은 세포 요법에 적합한 조작된 T 세포를 성공적으로 생산하는데 필요한 시간량이 여러 가지일 수 있어, 세포 요법의 투여를 조정하기 어려울 수 있다. 특정 측면에서, 이 공정들 중 일부는 탈진된 세포, 분화된 세포, 또는 낮은 효력을 갖는 세포의 비교적 높은 백분율 또는 양을 포함하는 세포 집단을 생산할 수 있다. 제공된 방법에서 사용하기 위한 제공된 BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물은 이 문제들 중 하나 이상을 해결한다.

[0081] 구체적인 구현예에서, 제공된 방법은 세포 요법에 사용하기에 적합한 조작된 세포를 효율적으로 생산하거나 생성하기 위한 공정과 관련하여 사용된다. 일부 구현예에서, BCMA-지시된 CAR 조작된 T 세포를 함유하는 제공된 조성물은 세포를 증폭시키기 위한 임의의 추가 단계가 필요 없는, 예를 들어 증폭 단위 조작이 없는 및/또는 세포의 증폭을 유발하도록 의도된 단계가 없는 공정에 의해 생산된다. BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물을 생산하기 위한 공정들의 측면에서, 상기 공정들은 세포 요법을 위한 조성물로서 사용하기 위해 채집되거나 제형화될 수 있는 조작된 T 세포의 집단을 생산하기 위해 T 세포를 자극하고 유전자 조작(예를 들어, 형질전환, 형질도입 또는 형질주입)하는 하나 이상의 단계를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 상기 공정들은 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산을 함유하는 바이러스 벡터(예를 들어, 렌티바이러스 벡터)로 세포를 형질도입하는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 제공된 공정들은 (바이러스 벡터로부터 발현된) 이중 핵산의 세포의 게놈 내로의 안정한 통합을 야기한다. 일부 측면에서, 제공된 공정들은 대안적 공정들, 예컨대 세포를 증폭시키는 것을 수반하는 공정들로부터 생산된 조작된 T 세포 조성물과 비교하여 증진된 효력을 갖는 조작된 BCMA-지시된 CAR T 세포를 생성한다.

[0082] 구체적인 측면에서, 제공된 조성물을 생산하는 공정들의 지속기간은 세포, 예를 들어 투입 세포 집단 또는 투입 조성물의 T 세포가 본원에서 자극 또는 자극하는 단계의 개시로 지칭되고, 또한 본원에서 자극 시약에 대한 노출로 지칭되는, 자극 조건(예를 들어, 본원의 섹션 II-C에 기술된 바와 같이)에 먼저 접촉 또는 노출될 때로부터 측정될 수 있고, 예를 들어 자극 시약에 대한 노출이 개시될 때 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 조작된 세포를 함유하는 산출 집단(본원에서 산출 조성물 또는 조작된 세포, 예를 들어, 조작된 T 세포의 조성물이라고도 지칭됨)을 수확 또는 채집하는 데 필요한 시간의 지속기간은 자극의 개시로부터 측정된다. 구체적인 구현예에서, 이 공정의 총 지속기간은 (약) 120시간, 108시간, 96시간, 84시간, 72시간, 60시간, 48시간, 36시간, 또

는 30시간이거나 또는 그 미만이다. 구체적인 구현예에서, 이 공정의 지속기간은 (약) 5일, 4일, 3일, 2일 또는 1일이거나 또는 그 미만이다. 구체적인 구현예에서, 조작된 세포, 예를 들어, 산출 조성물 또는 집단의 세포는 더 긴 시간량을 필요로 하는 공정들로 조작된 세포보다 더 강력하거나, 지속적이거나 또는 나이브-유사하다. 일부 측면에서, 제공된 공정들의 지속기간, 예를 들어 조작된 T 세포 집단을 생성하거나 생산하기 위해 필요한 시간량은 일부 기존 공정들보다 (약) 또는 적어도 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 또는 7일을 초과하여 더 짧다. 일부 구현예에서, 제공된 공정의 지속기간은 대체의 또는 기존 공정들의 (약) 75%, 60%, 50%, 40%, 30%, 25%, 15%, 또는 10%이거나 그보다 더 적다.

[0083] 특정 구현예에서, 제공된 공정들이 생물학적 샘플로부터 단리, 농축 또는 선택된 세포, 예를 들어 CD3+, CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포의 집단에 대해 수행된다. 일부 측면에서, 제공된 방법은 다른 방법 또는 공정과 비교하여 생물학적 샘플이 대상체로부터 채집되는 때로부터 단축된 시간량 내에 조작된 T 세포의 조성물을 생산하거나 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 생물학적 샘플, 또는 농축, 단리, 또는 선택된 세포가 냉동 보존 및 저장되는 모든 시간을 포함하여, 생물학적 샘플이 대상체로부터 채집되고 조작된 T 세포가 채집, 수확, 또는 제형화될 때까지(예를 들어, 냉동 보존 또는 투여를 위해) (약) 10일, 9일, 8일, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 또는 2일 내에 또는 (약) 120시간, 96시간, 72시간, 또는 48시간 내에, 조작된 T 세포를 생산 또는 생성할 수 있다.

[0084] 구체적인 구현예에서, T 세포 집단을 생산 또는 조작하는 공정은 예컨대 바이러스 벡터로 형질도입하기 전에 세포를 자극하는 단계를 포함한다. 제공된 공정의 측면에서, 자극은 자극 결합제(들)(예를 들어, 항-CD3/항-CD28)가 고정되거나 부착된 올리고머성 자극 시약, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머로 수행된다. 외인성 성장 인자의 부재 시에 또는 소량의 외인성 성장 인자가 있을 시에 시험관 내에서 T 세포를 자극하는 데 사용하기 위한 기존 시약은 알려져 있다(예를 들어, 문헌[미국 특허 6,352,694 B1 및 유럽 특허 EP 0 700 430 B1] 참조). 일반적으로, 이러한 시약은 다양한 결합제(예를 들어, 항-CD3 항체 및/또는 항-CD28 항체)가 고정된 1 μm 초과의 직경의 비드(예를 들어, 자성 비드)를 사용할 수 있다. 그러나, 일부 경우에, 이러한 자성 비드는 예를 들어, 대상체에게 증폭된 T 세포를 투여하기 전에 이러한 자성 비드가 완전히 제거되도록 보장해야 하기 때문에 임상 시험 또는 치료 목적을 위해 필요한 조건에서 세포를 자극하기 위한 방법에 통합되기 어렵다. 일부 측면에서, 세포를 자기장에 노출시키는 등에 의한 이러한 제거는 세포 요법에 이용 가능한 생존 세포의 수율을 감소시킬 수 있다. 특정 경우에, 이러한 시약, 예를 들어 자성 비드를 함유하는 자극 시약은 자극 시약으로부터 충분한 양의 T 세포의 탈착을 허용하기 위해 최소한의 시간량 동안 세포와 함께 인큐베이션되어야 한다.

[0085] 올리고머성 자극 시약, 예를 들어 스트렙타비딘 뮤테인 중합체를 이용하는 제공된 공정은 이러한 잠재적인 한계를 극복한다. 예를 들면, 일부 구현예에서, 제공된 공정은 이 공정에 의해 생성된 또는 생산된 산출 세포에서 잔류 자극 시약, 예를 들어 자성 비드를 함유하는 시약의 위험을 회피하거나 감소시킨다. 일부 구현예에서, 이는 또한 GMP 표준을 따르는 공정이 다른 방법, 예컨대 최종 조작된 T 세포 집단이 비드가 없는 것을 보장하기 위해 추가 조치를 취해야 하는 방법에 비해 보다 용이하게 확립될 수 있음을 의미한다. 일부 구현예에서, 이는 올리고머성 자극 시약을 세포로부터 예를 들어, 단순히 세포를 행구거나 세척함으로써, 예를 들어, 원심분리에 의해 해리시키는 물질, 예를 들어, 경쟁 시약의 첨가에 의해 본 구현예에서 용이하게 달성될 수 있다. 따라서, 일부 측면에서, 물질 또는 경쟁 시약의 첨가 등에 의한 세포로부터 올리고머성 자극 시약의 제거 또는 분리는 비드 기반 자극 시약의 제거 또는 분리와 비교하여 세포 손실을 거의 또는 전혀 초래하지 않는다. 일부 측면에서, 올리고머성 자극 시약의 제거 또는 분리의 타이밍은 비드 기반 자극 시약의 제거 또는 분리보다 제한되지 않거나 또는 그보다 적게 제한된다. 따라서, 일부 측면에서, 올리고머성 자극 시약은 제공된 공정 동안 임의의 시간 또는 단계에서 세포로부터 제거되거나 분리될 수 있다.

[0086] 일부 측면에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 항-CD3/항-CD28 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머)의 사용은 항-CD3/항-CD28 상자성 비드 등의 대안적인 자극 시약에 비해 자극 신호의 전체적인 감소를 초래할 수 있다. 더 약하거나 감소된 자극을 수반할 수 있는 제공된 공정은 더 강한 자극 조건 또는 더 높은 양 또는 농도의 자극 시약을 수반하는 공정에 의해 생성된 CAR+ T 세포 만큼, 또는 훨씬 더, 강력하거나, 지속적이거나, 또는 효과적인 조작된 CAR+ T 세포를 생성할 수 있으며, 예컨대 항-CD3/항-CD28 상자성 비드로의 자극 후 일어날 수 있다. 또한, 일부 구현예에서, 더 적은 양 또는 상대적으로 적은 양의 올리고머성 자극 시약으로 세포를 자극하는 것은, 더 많은 양의 올리고머성 자극 시약을 사용하는 공정과 비교하여, 생성되는 조작된 세포 집단의 효력, 효능, 또는 지속성을 증가시킬 수 있다. 이러한 구현예는 공정 중 및 공정 후에 활성화 표지자의 발현 또는 활성화 표지자에 대해 양성인 세포의 일부를 감소시키기에 충분히 낮은 용량에서도 이러한 효과가 지속될 수 있음을 고려한다.

- [0087] 특정 구현예에서, 제공된 공정에 의해 생산된 또는 생성된, 조작된 T 세포, 예를 들어, 키메라 항원 수용체 등의 재조합 수용체를 발현하는 T 세포를 함유하는 T 세포의 산출 조성물 또는 집단은 세포 요법을 위한 세포로 이용될 때 특히 효과적이거나 강력하다. 예를 들면, 일부 측면에서, 제공된 공정으로부터 생성된 조작된 T 세포(예를 들어, CAR+ T 세포)를 함유하는 산출 조성물은 대안적인 기존 공정에 의해 생성되거나 생산된 조작된 T 세포보다 훨씬 더 높은 효력 및/또는 증식 능력을 갖는다. 일부 측면에서, 제공된 공정에 의해 생산된 조작된 T 세포(예를 들어, CAR+ T 세포)를 함유하는 산출 조성물은 대안적 또는 기존 방법에 의해 생산된 조작된 T 세포(예를 들어, CAR+ T 세포)보다 향상된 항-종양 또는 항암 세포 활성을 갖는다.
- [0088] 구체적인 구현예에서, 세포가 임계량 또는 농도까지 증폭되는 단계를 포함하지 않는, 제공된 BCMA-지시된 T 세포 조성물을 생산하는 방법은 추가적인 이점이 있다. 일부 측면에서, 출발 세포 집단, 예를 들어 투입 집단으로부터 세포의 수 또는 농도를 증가시키기 위해 세포를 증폭시키는 것에 의존하지 않는 프로토콜은 세포 집단 간에 다를 수 있는 인큐베이션 또는 육성을 필요로 하지 않는다. 예를 들면, 일부 구현예는 특히 고위험, 공격성 및/또는 R/R MM을 비롯한 MM 환자의 경우와 같이, 상이한 질병 또는 질병 아형이 있는 대상체와 같은 상이한 대상체들로부터 수득된 세포 집단들이 상이한 속도로 분열 또는 증폭될 수 있음을 고려한다. 특정 측면에서, 세포 증폭을 요구하는 잠재적으로 가변적인 단계들을 제거하는 것은 전체 공정의 지속기간이 엄격하게 제어될 수 있게 한다. 특정 구현예에서, 공정 지속기간의 가변성은 감소되거나 제거되며, 이는 일부 측면에서, 의사, 환자 및 기술자 사이의 약속 및 치료를 위한 개선된 조정을 가능하게 하여 자가 세포 요법을 용이하게 할 수 있다.
- [0089] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 특정 군 또는 서브세트의 대상체, 예를 들어, 고위험 질병, 예를 들어 고위험 혈액성 악성 종양 또는 고위험 MM을 가진 것으로 식별된 대상체를 치료하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 본 방법은 표준 요법에 대해 재발성 또는 불응성(R/R)이고/거나 불량한 예후를 갖는 MM과 같은 불량한 예후의 MM의 형태를 갖는 대상체를 치료한다. 일부 측면에서, 본 방법은 표준 요법에 대해 재발성 또는 불응성(R/R)인 MM을 가진 대상체를 치료한다. 구체적인 측면에서, 조작된 세포는 대상체에 대해 자가(autologous)이고, 조작된 세포를 생산하는 방법 동안 세포를 증폭시키기 위한 육성 단계를 포함하지 않거나 수반하지 않고/않거나 더 낮은 용량의 투여를 허용하는 덜 분화된 CAR-조작된 T 세포 조성물을 생산할 수 있는 기존 방법과 비교하여 단축된 생체의 공정에 의한 생성 후 투여된다. 그 결과, 제공된 방법은 기존의 방법에 비해 유익한데, 이는 특히 질병 또는 병태를 치료하기 위한 하나 이상의 다른 선행 요법에 이어서 치료에 대해 재발성이거나 불응성인 대상체와 같은 치료를 필요로 하는 환자 중에서, 조작된 T 세포 요법이 환자에게 이용 가능할 때까지의 시간을 단축시킬 수 있기 때문이다. 일부 측면에서, 제공된 방법, 조성물, 용도 및 제조품은 이용 가능한 요법에 대한 개선되고 우수한 반응을 달성한다. 일부 구현예에서, 개선된 또는 우수한 반응은 현재 진료 표준(SOC)에 대한 것이다.
- [0090] 다발성 골수종(MM)은 골수 내 악성 형질 세포의 클론 증식 및 축적과 골용해성 병변의 발생을 특징으로 하는 혈액성 악성 종양이다(Palumbo 등, N Engl J Med. 2011; 364(11):1046-60). 이것은 모든 혈액성 악성 종양의 대략 10%를 차지한다. 2019년 미국(US)에서 MM으로부터 약 32,110건의 새로운 사례가 진단되었고 12,960건의 사망이 추정된다(Siegel 등, CA Cancer J Clin. 2019; 69(1):7-34).
- [0091] 진단시 중앙 연령(median age)은 69세이고, 새로 진단된 사람들 중 15% 미만이 55세 미만이었다(SEER Cancer Stat Facts: Myeloma Web site, <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html>, accessed March 8, 2019). 증후성 질환의 임상적 특징은 칼슘 상승, 신장 손상, 빈혈, 및 용해성 골 병변 또는 골다공증으로 이루어진 소위 “CRAB 기준”에 의해 요약된다(Palumbo 등, N Engl J Med. 2011; 364(11):1046-60). 다발성 골수종은 일부 환자들은 치료에도 불구하고 빠르게 진행되고 다른 환자들은 수년 간 치료가 필요하지 않은 분자적, 생물학적 및 임상적으로 이질적 질병이다. 전체 생존율(OS)(중앙값)은 5 내지 6년이다(Nandakumar 등, JCO 2019; 37:15_suppl: 8039).
- [0092] 신규 제제(즉, 면역 조절 의약품, 프로테아좀 억제제, 항-CD38 또는 SLAMF7-지시된 단클론 항체)는 단독으로 또는 종래의 요법과 병용하여 MM 환자들의 임상 결과에서 유의한 개선을 이끌어내왔다. 그러나, 이러한 최근의 진전에도 불구하고, MM은 약물 내성 클론이 출현함에 따라 다중 재발 및 높은 사망률을 갖는 난치병으로 남아 있다(Cho 등, Front Immunol. 2018; 9:1821; Cornell 등, Bone Marrow Transplant 2016; 51(4):479-91). 이용 가능한 치료법에 대해 재발성 및/또는 불응성(R/R)인 MM을 갖는 환자들의 중앙 생존값(OS)은 낮다. 따라서, MM 환자들에서 재발을 극복하고 생존 결과를 개선하기 위해 더 새로운 치료적 접근법이 필요하다.
- [0093] 종양 괴사 인자(TNF) 수용체 상과(superfamily)의 멤버인 B 세포 성숙 항원(BCMA)은 B 세포의 성숙과 형질 세포로의 분화에 관여하는 형질 세포 상에서 발현되는 세포 표면 단백질이다. 이는 B 세포 활성화 인자(BAFF-R)에 대한 관련된 수용체의 발현 손실과 병행하여 형질 세포의 분화 동안 유도된다. BCMA의 그의 리간드, B-세포 활

성화 인자(BAFF) 및 증식-유도 리간드(APRIL)에의 결합은 형질 세포의 생존을 유도하여, 체액 면역을 향상시킨다.

[0094] BCMA는 MM 세포주 및 MM을 갖는 환자 유래 세포 상에서 고도로 발현되고, 그 발현이 질병의 진행에 따라 증가하는 것으로 보이기 때문에 BCMA는 매력적인 치료 표적이다(Tai 등, Immunotherapy 2015; 7(11):1187-99). 중요하게는, BCMA 단백질은 조혈 줄기세포, 나이브 B 세포, 또는 정상 비-조혈 조직에서 발현되지 않는다(Carpenter 등, Clin Cancer Res. 2013; 19(8):2048-60; Tai 등, Immunotherapy 2015; 7(11):1187-99). 따라서, 표적내/중양의 상호작용과 관련된 독성은 BCMA를 표적화하는 제제로 감소된다.

[0095] CAR T 세포 발달에 대한 도전 과제는 주입 후 장기 지속적인 항종양 반응을 지속적으로 증폭, 지속 및 매개하는 생성물을 생성하는 것이다. BCMA-표적화 CAR T 세포는 MM의 치료에 대해 평가되고 있다. 임상전 연구에서, BCMA-표적화 키메라 항원 수용체(CAR) 구조체로 형질도입된 T 세포는 높은 수준의 사이토카인(예를 들어, 인터페론 감마[IFN- γ], TNF α , 인터루킨-2[IL-2])를 생산하였고 BCMA-발현 표적 세포로 자극시 증식하였다. 또한, BCMA-표적화 CAR T 세포는 마우스 이종 이식 모델에서 BCMA-발현 MM 세포를 사멸시켰고 BCMA-발현 종양을 근절시켰다(Carpenter 등, Clin Cancer Res. 2013; 19(8):2048-60). BCMA-지시된 CAR T 세포의 투여 후 CAR-조작된 T 세포의 지속성 및 다발성 골수종 환자의 반응의 지속성은 도전 과제이다.

[0096] 구체적인 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 BCMA-지시된 CAR T 세포 요법의 투여에 기초하며, 여기서 CAR은 BCMA-지시된 scFv 항원 결합 도메인을 함유한다. CAR은 CD3제타 유래 신호전달 도메인을 함유하는 세포내 신호전달 도메인을 추가로 함유하고, 또한 4-1BB 공자극 도메인을 포함한다.

[0097] 제공된 방법은 입양 전달된 T 세포의 더 낮은 분화 상태가 이 세포들의 장기 지속적인 항종양 면역을 지속하고 증진하는 능력에 영향을 줄 수 있다는 발견에 기초한다. 일부 구현예에서, 제공된 BCMA-지시된 CAR+ 조작된 T 세포 조성물은 세포가 증폭 조건 하에 육성되지 않아 최종 조작된 산출 조성물의 집단 배가의 수를 제한하거나 감소시켜 덜 분화된 생성물을 생성하는 방법에 의해 생산된다. 그러나, 제공된 조성물은 또한 안정하게 통합된 벡터 카피수(iVCN)를 생성하여 CAR의 일관되고 신뢰할 수 있는 발현을 보장함으로써 대상체에게 투여하기 위한 일관된 세포 생성물 및 투여된 용량에서 CAR-발현 세포들 중에서 낮은 가변성을 초래하는 공정을 통해 생산된다. 대조적으로, T 세포 조작을 위한 대부분의 프로토콜은 일상적으로 생체외에서 9일 내지 14일 이상 동안 T 세포를 증폭시킨다. 본원에 예시된 제공 데이터는 분화가 적은 기억 T 세포의 증가된 조성을 갖는 CAR T 세포 생성물이 향상된 장기 지속적인 항종양 활성을 나타낼 수 있는 모델을 뒷받침한다. 이러한 발견은 CAR T 세포 생성물에서 효과기 분화를 최소화하는 것을 목표로 하는 전략이 개선된 임상 효능을 초래할 수 있다는 것을 보여준다. 이러한 목표를 충족시킬 수 있는 구현예가 본원에 제공된다.

[0098] 본원의 관찰은 제공된 방법에 따라 BCMA-지시된 CAR T 세포 요법으로 고위험 질병을 가진 대상체를 치료하는 것을 뒷받침한다. 예를 들어, 재발성/불응성(R/R) MM과 같은 고위험 MM을 가진 환자를 포함하는 MM을 가진 대상체는 제공된 방법에 따라 치료될 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 (예를 들어, 질병을 치료하기 위해 하나, 둘, 셋, 넷 또는 그 이상의 선행 요법으로) 아주 많은 선행 치료를 받은 대상체를 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0099] 본 출원에서 언급된 특허 문헌, 과학 논문 및 데이터베이스를 포함한 모든 출판물은 각각의 개별 출판물이 개별적으로 참조로 통합된 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 포함된다. 본원에 제시된 정의가 본원에 참조로 포함된 특허, 출원, 공개된 출원 및 기타 출판물에 제시된 정의와 상반되거나 달리 부합하지 않는 경우, 본원에 제시된 정의가 본원에 참조로 포함된 정의보다 우선한다.

[0100] 본원에 사용된 섹션 제목은 단지 구성을 위한 목적이며 기재된 주제를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0101] I. 다발성 골수종에서 BCMA-표적화 세포 요법의 방법 및 용도

[0102] 조작된 T 세포와 같은 조작된 세포 또는 조작된 세포를 함유하는 조성물을 투여하는 것을 수반하는 치료 방법이 본원에 제공된다. 또한, 조작된 세포 및/또는 이의 조성물의 투여를 수반하는 R/R MM 등의 고위험 MM을 포함하는 다발성 골수종(MM)을 갖는 대상체의 치료 방법을 포함하는, 제공된 BCMA-지시된 CAR 조작된 세포(예를 들어, T 세포) 및/또는 이의 조성물의 방법 및 용도가 제공된다. 일부 구현예에서, 적어도 2종 이상의 선행 요법에 실패한 R/R MM을 갖는 대상체의 치료 방법을 포함하는, 제공된 BCMA-지시된 CAR 조작된 세포(예를 들어, T 세포) 및/또는 이의 조성물의 방법 및 용도가 제공된다. 구체적인 구현예에서, 본 방법은 대상체에게 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 포함하는 T 세포의 용량을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 상기 T 세포는 BCMA에 특이적으로 결합하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함한다.

[0103] 일부 구현예에서, 본 방법 및 용도는 입양 세포 요법에서 MM에 의해 발현되는, 이와 관련된 및/또는 이에 특이적인 BCMA 및/또는 유래된 세포 유형을 인식하는, 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 키메라 수용체인 것이 일반적인, 유전자 조작된 (재조합) 세포 표면 수용체를 발현하는 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 상기 세포는 일반적으로 투여를 위해 제형화된 조성물로 투여된다. 일부 구현예에서, 세포는 BCMA-지시된 재조합 수용체(예를 들어, CAR)로 세포를 조작하기 위한 목적을 위해 치료 전 대상체로부터 채집된다. 일부 구현예에서, 세포는 백혈구 성분채집술에 의해 채집된다. 일부 측면에서, 세포는 증폭을 위해 세포를 육성하는 것을 포함하지 않는 생체의 방법에 의해 조작된다(이하, 비증폭 공정이라고도 함). 제공된 CAR-발현 치료용 조성물을 조작하기 위한 예시적인 비증폭 공정은 섹션 II.C에 기재되어 있다.

[0104] 일부 구현예에서, 치료될 질병 또는 병태는 고위험 다발성 골수종(MM)이다. 일부 구현예에서, 대상체는 혈청 단백질 전기영동(SPEP)에 의해 측정했을 때, 0.5g/dL 이상의 혈청 M-단백질 수준; 소변 단백질 전기영동(UPEP)에 의해 측정했을 때, 200mg/24-시간 이상의 소변 M-단백질 수준; 비정상적인 카파/람다 비를 수반하는 10mg/dL 이상의 수반된 무형질 경쇄(SFLC) 수준; 또는 상기 중 임의의 것의 임의의 조합에 의해 표시되는 측정 가능한 질병을 갖는다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전 대상체는 0.5g/dL 미만의 혈청 M 단백질 수준; 200mg/24 시간 미만의 소변 M 단백질 수준; 및 비정상적인 카파/람다 비를 수반하는 10mg/dL 이상의 SFLC 수준으로 표시되는 측정 가능한 질병을 가진다.

[0105] 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 0 또는 1의 ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도를 가진다(예를 들어, 문헌[Oken 등, (1982) Am J Clin Oncol. 5:649-655] 참조). 일부 구현예에서, ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도 지표는 치료를 위한 대상체, 예를 들어 선행 요법으로부터 성과가 좋지 않았던 대상체를 평가하거나 선별하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Oken 등, (1982) Am J Clin Oncol. 5:649-655] 참조). 수행도의 ECOG 척도는 스스로를 돌보는 능력, 일상 활동 및 신체 능력(예를 들어, 걷기, 일하기 등)의 관점에서 환자의 기능 수준을 설명한다. 일부 구현예에서, 0의 ECOG 수행도는 대상체가 정상적인 활동을 수행할 수 있음을 나타낸다. 일부 측면에서, 1의 ECOG 수행도를 갖는 대상체는 신체 활동에 일부 제한을 보이거나 대상체는 완전히 보행할 수 있다. 일부 측면에서, 2의 ECOG 수행도를 갖는 환자는 50% 이상 보행할 수 있다. 일부 경우에, 2의 ECOG 수행도를 갖는 대상체는 스스로를 돌볼 수도 있다. 예를 들어, 문헌[Sørensen 등, (1993) Br J Cancer 67(4) 773-775]을 참조한다. ECOG 수행도를 반영하는 기준이 아래 표 1에 기술된다.

[0106] [표 1]

표 1. ECOG 수행도 기준	
등급	ECOG 수행도
0	제한없이 모든 질병 전 수행력을 발휘할 수 있는, 완전히 활동적임
1	육체적으로 격렬한 활동이 제한되나 걸을 수 있고 가볍거나 앉아서 하는 성질의 일, 예를 들어 가벼운 집안 일, 사무실 작업을 수행할 수 있음
2	깨어 있는 시간의 50% 이상 일어나 걸을 수 있고 모든 자기 돌봄이 가능하나 어떠한 작업 활동도 수행할 수 없음
3	제한된 자기 돌봄만 가능하며; 깨어 있는 시간의 50% 이상 침대나 의자에서 지냄
4	완전히 지체 부자유함; 어떠한 자기 돌봄도 수행할 수 없음; 전적으로 침대나 의자에서 지냄
5	사망

[0107]

[0108] 일부 구현예에서, 제공된 BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물의 투여 전에(예컨대 투여할 시에), 대상체는 MM에 대해 하나 이상의 선행 요법 이후 관해된 이후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 임의의 구현예에서, BCMA-지시된 CAR T 세포 조성물을 조작하는 것과 관련하여 백혈구 성분채집술 이전 시점에, 대상체는 MM을 치료하기 위한 하나 이상의 선행 요법으로 치료 후 관해된 이후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 따라서, 구체적인 구현예에서, 치료 시점 전에, 예컨대 백혈구 성분채집술 전에, 대상체는 R/R MM을 가지고 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 재조합 수용체를 발현하는 세포의 투여 전에, 질병 또는 병태(예를 들어, MM)를 표적으로 하는 요법 또는 치료제로 앞서 치료를 받았다. 일부 구현예에서, 대상체는 조혈 줄기세포 이식(HSCT), 예를 들어, 동종이계 HSCT 또는 자가 HSCT로 앞서 치료를 받았다. 일부 구현예에서, 대상체는 표준 요법으로 치료 후 예후가

종지 않았고/거나 선행 요법 중 하나 이상의 치료법에 실패하였다. 일부 구현예에서, 대상체는 MM 예컨대 고위험 MM을 치료하기 위해 치료를 받았거나 이전에 적어도 또는 적어도 약 또는 약 1, 2, 3, 4회 또는 그 이상의 다른 요법을 받았다. 일부 구현예에서, 대상체는 CD38 표적화 제제(예를 들어, 항-CD38 항체)를 포함하는 요법을 받았거나 이전에 받은 적이 있다. 일부 측면에서, 대상체는 선행 요법에 대해 완전 반응(CR) 또는 부분 반응(PR)의 초기 반응 후에 재발하였다. 일부 구현예에서, 대상체는 적어도 하나 이상의 선행 요법에 의한 치료에 불응성이며, 불응성 치료는 선행 요법 후 안정 병변(SD) 또는 진행성 병변(PD)의 최상의 반응이다.

[0109] 일부 구현예에서, 대상체는 질병 또는 병태에 대한 1개 라인 이상의 선행 요법으로 치료한 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 일부 구현예에서, 대상체는, 다른 무엇보다도, 한 라인의 요법의 최종 용량 완료 후 60일 동안 또는 이내에 진행성 병변이 기록되면, 상기 라인의 요법에 대해 불응적인 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 대상체는 상기 라인의 요법의 최종 용량 완료 후 60일 동안 또는 이내에 진행성 병변이 기록되었다. 일부 구현예에서, 대상체는 상기 라인의 요법의 최종 용량 완료 후 12개월 동안 또는 이내에 진행성 병변이 기록되었고, 대상체는 MM을 치료하기 위한 가장 최신 라인의 요법에 불응성 또는 비반응성이다.

[0110] 일부 구현예에서, 대상체는 질병 또는 병태에 대한 2개 라인 이상의 선행 요법으로 치료한 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 일부 구현예에서, 대상체는 질병 또는 병태에 대한 적어도 3개 라인 이상의 선행 요법으로 치료한 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다.

[0111] 일부 구현예에서, 대상체는 자가 줄기세포 이식(ASCT) 치료 이후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 일부 구현예에서, 대상체는 연령 또는 다른 인자로 인해 백혈구 성분채집술 전에 ASCT를 받지 않았다.

[0112] 일부 구현예에서, 대상체는 면역 조절제를 사용한 적어도 1회의 치료 사이클 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 예시적인 면역 조절제에는 탈리도마이드, 레날리도마이드, 및 포말리도마이드가 포함되나 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 면역 조절제를 사용한 적어도 2회의 연속 치료 사이클 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 일부 구현예에서, 대상체는 면역 조절제를 사용한 적어도 1회의 완전한 치료 사이클 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다.

[0113] 일부 구현예에서, 면역 조절제는 면역 관문 억제제이다. 일부 구현예에서, 면역 조절제는 면역 조절 항체이다. 예시적인 면역 관문 억제제에는 트레멜리무맙(CTLA-4 차단 항체; 티실리무맙, CP-675,206으로도 알려짐), 항-OX40, PD-L1 단클론 항체(항-B7-H1; MEDI4736), MK-3475(PD-1 차단제), 니볼루맙(항-PD-1 항체), CT-011(항-PD-1 항체), BY55 단클론 항체, AMP224(항-PD-L1 항체), BMS-936559(항-PD-L1 항체), MPLDL3280A(항-PD-L1 항체), MSB0010718C(항-PD-L1 항체) 및 이필리무맙(항-CTLA-4 항체; Yervoy®, MDX-010 및 MDX-101로도 알려짐)이 포함된다. 예시적인 면역 조절 항체에는 다클리주맙(Zenapax), 베바시주맙(Avastin®), 바실리시맙(Basiliximab), 이필리무맙(Ipilimumab), 니볼루맙(Nivolumab), 펌브롤리주맙(pembrolizumab), MPDL3280A, 피딜리주맙(CT-011), MK-3475, BMS-936559, MPDL3280A(아테졸리주맙(Atezolizumab)), 트레멜리무맙(tremelimumab), IMP321, BMS-986016, LAG525, 우렐루맙(urelumab), PF-05082566, TRX518, MK-4166, 다세투주맙(SGN-40), 루카투주맙(HCD122), SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, MSB0010718C(아벨루맙(Avelumab)), MEDI4736, PDR001, rHlgM12B7, 울로쿠플루맙(Ulocuplumab), BKT140, 발리루맙(CDX-1127), ARGX-110, MGA271, 릴리루맙(BMS-986015, IPH2101), IPH2201, ARGX-115, 에막투주맙(Emactuzumab), CC-90002 및 MNRP1685A 또는 이의 항체 결합 단편이 포함되나 이에 한정되지는 않는다. 다른 예시적인 면역 조절제에는, 예를 들어, 아푸투주맙(Roche®로부터 이용 가능); 페그필그라스탐(Neulasta®); 레날리도마이드(CC-5013, Revlimid®); 탈리도마이드(Thalomid®), 액티미드(CC4047); 및 IRX-2(인터루킨 1, 인터루킨 2 및 인터페론 감마, IRX Therapeutics으로부터 입수 가능한 CAS 951209-71-5를 포함하는 인간 사이토카인 혼합물)가 포함된다.

[0114] 일부 구현예에서, 대상체는 프로테아좀 억제제를 사용한 적어도 1회의 치료 사이클 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 예시적인 프로테아좀 억제제에는 보르테오미, 카필조미, 및 익사조미가 포함된, 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 프로테아좀 억제제를 사용한 적어도 2회의 연속 치료 사이클 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다.

[0115] 일부 구현예에서, 대상체는 면역 조절제를 단독으로 사용한 적어도 2회의 연속 치료 사이클 및 프로테아좀 억제제를 단독으로 사용한 적어도 2회의 연속 치료 사이클 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 일부 구현예에서, 대상체는 면역 조절제 및 프로테아좀 억제제를 병용하여 사용한 적어도 2회의 연속 치료 사이클 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다.

- [0116] 일부 구현예에서, 대상체는 항-CD38 항체를 사용한 치료 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 예시적인 항-CD38 항체에는 다라투무맙이 포함되나 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 항-CD38 항체 치료는 단일요법이다. 일부 구현예에서, 항-CD38 항체 치료는 병용 요법의 일부이다.
- [0117] 일부 구현예에서, 대상체는 (1) ASCT를 받기에 적절한 경우 ASCT; (2) 면역 조절제를 단독으로 및 프로테아좀 억제제를 단독으로 사용한 적어도 2회의 연속 치료 사이클; 및 (3) 항-CD38 항체를 사용한 치료 중 각각 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다. 일부 구현예에서, 대상체는 (1) ASCT를 받기에 적절한 경우 ASCT; (2) 면역 조절제 및 프로테아좀 억제제를 병용하여 사용한 적어도 2회의 연속 치료 사이클; 및 (3) 항-CD38 항체를 사용한 치료 중 각각 후 관해 후 재발했거나 이에 대해 불응성이 되었다.
- [0118] 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전에 투여된 최종 라인의 선행 요법에 대해 불응성이다.
- [0119] 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 MM의 활성 중추신경계(CNS) 침윤을 가지고 있지 않다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 MM의 CNS 침윤 이력을 가지고 있지 않다.
- [0120] 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 활성 형질 세포성 백혈병; 발덴스트롬 거대글로불린혈증; 다발성 신경병증, 장기종대, 내분비병증, 단클론 단백질, 피부 변화(POEMS) 증후군; 임의의 임상적으로 유의한 아밀로이드증; 또는 상기 중 임의의 것의 임의의 조합을 가지고 있지 않다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 형질 세포성 백혈병; 발덴스트롬 거대글로불린혈증; POEMS 증후군; 임의의 임상적으로 유의한 아밀로이드증; 또는 상기 중 임의의 것의 임의의 조합의 이력을 가지고 있지 않다. 일부 구현예에서, 조작된 세포의 투여 전에 또는 투여 때까지 대상체는 활성 형질 세포성 백혈병; 발덴스트롬 거대글로불린혈증; POEMS 증후군; 임의의 임상적으로 유의한 아밀로이드증; 또는 상기 중 임의의 것의 임의의 조합을 가지고 있지 않다.
- [0121] 일부 구현예에서, 대상체는 제공된 방법에 따라 BCMA-지시된 조작된 CAR T 세포의 투여 전에 CAR T 세포 요법을 이전에 받은 적이 없다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전에, 대상체는 유전자 변형 T 세포 요법을 받은 적이 없다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전에, 대상체는 BCMA-표적화 요법을 받은 적이 없다. 예시적인 BCMA-표적화 요법에는 이중특이성 T 세포-결합 항체 또는 분자, 항체 약물 접합체(BCMA-ADC), 및 BCMA-지시된 T 세포 요법(예를 들어, BCMA 키메라 항원 수용체 T 세포)가 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 플루다라빈 및/또는 시클로포스파미드에 과민성을 갖고 있지 않다. 일부 구현예에서, 대상체는 면역 억제 요법을 필요로 하는 활성 자가면역 질환을 갖고 있지 않다.
- [0122] 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 14일 이내에는 코르티코스테로이드의 치료 용량을 받지 않았다. 일부 구현예에서, 코르티코스테로이드의 치료 용량은 20mg/day 초과인 프레드니손 또는 등가물로 정의된다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 14일 이내에는 항-MM 항체를 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 14일 이내에는 다른 승인된 전신 항-MM 요법을 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 치료 전 14일 이내에(생물학적 제제의 경우) 또는 5 반감기 이내에(저분자의 경우) 실험 요법을 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 6달 이내에는 자가 줄기세포 이식(SCT)을 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 6달 이내에는 동종이계 SCT를 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 6주 이내에는 공여체 림프구 주입을 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 4주 이내에는 면역 억제 요법을 받지 않았다. 예시적인 면역 억제 요법은 칼시뉴린 억제제; 메토트렉세이트 또는 기타 화학 요법제; 미코페놀레이트; 라파마이신; 및 항-TNF, 항-IL6, 또는 항-IL6R 등의 면역 억제 항체를 포함하나 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 14일 이내에는 혈장분리교환술(plasmapheresis)을 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 전 6주 이내에는 큰 골수장(예를 들어, 골반 또는 흉골)을 포함한 영역을 표적화하는 방사선 요법을 받지 않았다. 일부 구현예에서, 대상체는 백혈구 성분채집술 14일 이내에는 단일 병변에 대한 방사선 요법을 받지 않았다.
- [0123] 일부 구현예에서, 조작된 세포를 투여하는 것을 수반하는 치료에 대한 대상체의 적격성은 백혈구 성분채집술 전에 결정된다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 백혈구 성분채집술을 위한 적절한 혈관 접근이 가능하다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 0 또는 1의 ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도를 가진다(예를 들어, 문헌[Oken 등, (1982) Am J Clin Oncol. 5:649-655] 참조). 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 선행 요법 후 임의의 비-혈액성 독성으로부터 1등급 이하로 회복되었다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 선행 요법 후 임의의 비-혈액성 독성으로부터 기준선으로 회복되었다.

- [0124] 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 전의 대상체는 적절한 기관 기능을 갖는다. 일부 구현예에서, 적절한 기관 기능은, 다른 인자들 중에서, 절대 호중구 수(ANC)가 적격성 판정 7일 이내에 성장 인자 지원 없이 1.0×10^9 개 세포/L 이상; 페그필그라스티미 이전에 투여된 경우, ANC가 적격성 판정 14일 이내에 성장 인자 지원 없이 1.0×10^9 개 세포/L 이상; 헤모글로빈 수준이 적격성 판정 21일 이내에 적혈구(RBC) 주입 없이 8g/dL 이상; 혈소판 수가 적격성 판정 7일 이내에 주입 지원 없이 50×10^9 개 세포/L보다 많음; 계산된 크레아틴 청소율(혈청 CrCl, Cockcroft-Gault 공식)이 적격성 판정 3일 이내에 수분공급의 지원 없이 60mL/min 이상; 아스파르트산 아미노기 전달효소(AST) 수준이 정상 상한(ULN)ULN 3.0배 이하; 알라닌 아미노기 전달효소(ALT) 수준이 ULN 3.0배 이하; 총 빌리루빈 수준이 ULN 1.5배 미만; 질베르 증후군의 경우, 직접적인 빌리루빈 수준이 ULN 1.5배 미만; 국제비(INR)가 ULN 1.5배 이하; 부분 트롬보플라스틴 시간(PTT)이 ULN 1.5배 이하; 적절한 폐 기능, 예를 들어 적실내 공기의 CTCAE 등급 1 호흡장애 및/또는 포화 산소(SaO_2 92% 초과) 이하; 적절한 심장 기능, 예를 들어 적격성 판정 8주 이내에 수행된 심초음파도(ECHO) 또는 다중 흡수 게이트 획득(MUGA) 스캔에 의해 평가했을 때 40% 이상의 좌심실 박출률(LVEF); 또는 전술한 것 중 임의의 조합으로 표시된다. 적절한 기관 기능은 또한 다른 인자들 중에서 계산된 크레아틴 청소율(CrCl)이 적격성 판정 3일 이내에 수분공급의 지원 없이 24시간 소변 수집으로 측정했을 때 60mL/min 이상; 및/또는 프로토티빈 시간(PT)이 ULN 1.5배 이하로 표시될 수 있다.
- [0125] 구체적인 구현예에서, BCMA-지시된 조작된 CAR T 세포의 용량의 투여 전에, 대상체는 림프구 고갈 화학 요법을 투여받거나 또는 받은 적이 있다.
- [0126] 림프구 고갈은 항상성 사이토카인, CD4+CD25+ 조절 T 세포의 감소, 골수 미세 환경 내의 SDF-1의 증가, 및 항원 제시 세포에 대한 자극 효과를 통해 CAR T 세포의 생착 및 활성을 향상시킬 수 있다(Grossman 등, Nat Rev Immunol. 2004; 4(5):387-395; Stachel 등, Pediatr Blood Cancer 2004; 43(6):644-50; Pinthus 등, J Clin Invest 2004; 114(12):1774-81; Turk 등, J Exp Med 2004; 200(6):771-82). 또한, LD 화학 요법은 대상체의 중앙 부담을 더 감소시키고 잠재적으로 사이토카인 방출 증후군(CRS)의 위험 및 중증도를 낮출 수 있다.
- [0127] 따라서, 일부 구현예에서, 본 방법은 조작된 세포의 투여 전에 대상체에 시클로포스파미드, 플루다라빈 또는 이의 조합물과 같은 림프구 고갈제 또는 화학 요법제와 같은 사전 조절제를 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, 대상체는 조작된 세포의 투여 적어도 2일 전, 예컨대 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9일 전에 사전 조절제를 투여받을 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 조작된 세포의 투여 9일 이내 전, 예컨대 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2일 이내 전에 사전 조절제를 투여받는다.
- [0128] 일부 구현예에서, 대상체는 대상체의 체중 (약) 20mg/kg 내지 100mg/kg, 예컨대 (약) 40mg/kg 내지 80mg/kg의 용량의 시클로포스파미드로 사전 조절된다. 일부 측면에서, 대상체는 (약) 60mg/kg의 시클로포스파미드로 사전 조절되거나 이를 투여받는다. 일부 구현예에서, 시클로포스파미드는 단일 용량으로 투여될 수 있거나, 예컨대 매일, 격일 또는 3일마다 주어진 복수의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 시클로포스파미드는 1일 또는 2일 동안 매일 1회 투여된다. 일부 구현예에서, 림프구 고갈제가 시클로포스파미드를 포함하는 경우, 대상체에 (약) $100\text{mg}/\text{m}^2$ 내지 $500\text{mg}/\text{m}^2$ (대상체의 체표면적), 예컨대 (약) $200\text{mg}/\text{m}^2$ 내지 $400\text{mg}/\text{m}^2$ 또는 $250\text{mg}/\text{m}^2$ 내지 $350\text{mg}/\text{m}^2$ (수치 포함)의 용량으로 시클로포스파미드를 투여한다. 일부 경우에, 대상체에 약 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드를 투여한다. 일부 경우에, 대상체에 약 $150\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드를 투여한다. 일부 경우에, 대상체에 약 $200\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드를 투여한다. 일부 경우에, 대상체에 약 $250\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드를 투여한다. 일부 경우에, 대상체에 약 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드를 투여한다. 일부 구현예에서, 시클로포스파미드는 단일 용량으로 투여될 수 있거나, 예컨대 매일, 격일 또는 3일마다 주어진 복수의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 시클로포스파미드는 예컨대 1 내지 5일 동안, 예를 들어 3 내지 5일 동안 매일 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 세포 요법의 개시 전 3일 동안 매일 약 $300\text{mg}/\text{m}^2$ (대상체의 체표면적)의 시클로포스파미드가 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체에 세포 요법의 개시 전에, 총 (약) $300\text{mg}/\text{m}^2$, $400\text{mg}/\text{m}^2$, $500\text{mg}/\text{m}^2$, $600\text{mg}/\text{m}^2$, $700\text{mg}/\text{m}^2$, $800\text{mg}/\text{m}^2$, $900\text{mg}/\text{m}^2$, $1000\text{mg}/\text{m}^2$, $1200\text{mg}/\text{m}^2$, $1500\text{mg}/\text{m}^2$, $1800\text{mg}/\text{m}^2$, $2000\text{mg}/\text{m}^2$, $2500\text{mg}/\text{m}^2$, $2700\text{mg}/\text{m}^2$, $3000\text{mg}/\text{m}^2$, $3300\text{mg}/\text{m}^2$, $3600\text{mg}/\text{m}^2$, $4000\text{mg}/\text{m}^2$ 또는 $5000\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드, 또는 상기 중 임의의 것에 의해 정의된 범위 만큼 투여된다.
- [0129] 일부 구현예에서, 림프구 고갈제가 플루다라빈을 포함하는 경우, 대상체에 (약) $1\text{mg}/\text{m}^2$ 내지 (약) $100\text{mg}/\text{m}^2$, 예

컨대 (약) $10\text{mg}/\text{m}^2$ 내지 (약) $75\text{mg}/\text{m}^2$, (약) $15\text{mg}/\text{m}^2$ 내지 (약) $50\text{mg}/\text{m}^2$, (약) $20\text{mg}/\text{m}^2$ 내지 (약) $40\text{mg}/\text{m}^2$ 또는 (약) $24\text{mg}/\text{m}^2$ 내지 (약) $35\text{mg}/\text{m}^2$ (수치 포함)의 용량으로 플루다라빈이 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 (약) $10\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈이 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 (약) $15\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈이 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 (약) $20\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈이 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 (약) $25\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈이 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 (약) $30\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈이 투여된다. 일부 구현예에서, 플루다라빈은 단일 용량으로 투여될 수 있거나, 예컨대 매일, 격일 또는 3일마다 주어진 복수의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 플루다라빈은 예컨대 1 내지 5일 동안, 예를 들어 3 내지 5일 동안 매일 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 세포 요법의 개시 전 3일 동안 매일 (약) $30\text{mg}/\text{m}^2$ (대상체의 체표면적)의 플루다라빈이 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체에 세포 요법의 개시 전에, 총 (약) $10\text{mg}/\text{m}^2$, $20\text{mg}/\text{m}^2$, $25\text{mg}/\text{m}^2$, $30\text{mg}/\text{m}^2$, $40\text{mg}/\text{m}^2$, $50\text{mg}/\text{m}^2$, $60\text{mg}/\text{m}^2$, $70\text{mg}/\text{m}^2$, $80\text{mg}/\text{m}^2$, $90\text{mg}/\text{m}^2$, $100\text{mg}/\text{m}^2$, $120\text{mg}/\text{m}^2$, $150\text{mg}/\text{m}^2$, $180\text{mg}/\text{m}^2$, $200\text{mg}/\text{m}^2$, $250\text{mg}/\text{m}^2$, $270\text{mg}/\text{m}^2$, $300\text{mg}/\text{m}^2$, $330\text{mg}/\text{m}^2$, $360\text{mg}/\text{m}^2$, $400\text{mg}/\text{m}^2$ 또는 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드, 또는 상기 중 임의의 것에 의해 정의된 범위 만큼 투여된다.

[0130] 일부 구현예에서, 림프구 고갈제는 시클로포스파미드 또는 플루다라빈과 같은 단일 제제를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체에 플루다라빈 또는 다른 림프구 고갈제 없이, 시클로포스파미드만 투여된다. 일부 구현예에서, 투여 전에, 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 200 내지 $400\text{mg}/\text{m}^2$ (대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) $300\text{mg}/\text{m}^2$ 의 시클로포스파미드의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받았다. 일부 구현예에서, 대상체에 예를 들어 시클로포스파미드 또는 다른 림프구 고갈제 없이, 플루다라빈만 투여된다. 일부 구현예에서, 투여 전에, 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 20 내지 $40\text{mg}/\text{m}^2$ (대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) $30\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받았다.

[0131] 일부 구현예에서, 림프구 고갈제는 시클로포스파미드 및 플루다라빈의 조합물과 같은 제제의 조합물을 포함한다. 따라서, 상기 제제의 조합물은 상기 기재된 바와 같은 임의의 용량 또는 투여 일정의 시클로포스파미드 및 상기 기재된 바와 같은 임의의 용량 또는 투여 일정의 플루다라빈을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 측면에서, 대상체에 제1 또는 후속 용량 전에 (약) $60\text{mg}/\text{kg}$ ($\sim 2\text{g}/\text{m}^2$)의 시클로포스파미드 및 $25\text{mg}/\text{m}^2$ 플루다라빈의 3 내지 5개 용량이 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체에 세포의 투여 전에, 플루다라빈($3\text{일 동안 } 30\text{mg}/\text{m}^2/\text{day}$) 및 시클로포스파미드($3\text{일 동안 } 300\text{mg}/\text{m}^2/\text{day}$) (flu/cy)가 동시에 정맥내 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체에 림프구 고갈제의 하나 이상의 용량들 중 감소된, 지연된 또는 제거된 용량이 투여된다.

[0132] 일부 구현예에서, 대상체로부터 세포를 채집한 후에 림프구 고갈(LD) 화학 요법을 투여하기 전에, 대상체는 질병 통제를 위해 가교 요법(bridging therapy)을 받을 수 있다. 환자의 연령, 질병의 중증도 또는 정도, 부작용의 가능성, LD 화학 요법 이전의 투여 시기, 이전의 요법들 및 다른 요인들과 같은 요인들을 기초로 하는 것을 포함하여, 특정 질병 또는 병태를 치료하기 위한 숙련된 의사의 판단을 기초로 가교 요법의 일부로서 임의의 다양한 요법이 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 가교 요법은 4주 이하 동안 투여된다. LD 요법 전에 가교로 제공될 수 있는 예시적인 요법에는 텍사메타손, 시클로포스파미드, 에토포시드, 및 시스플라틴(DCEP); 보르테오미드, 텍사메타손, 시스플라틴, 독소루비신, 시클로포스파미드, 및 에토포시드(VD-PACE); 시클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 및 텍사메타손(CVAD); 펄스 텍사메타손; 및 승인된 다라투무맙-함유 요법이 포함되나, 이에 한정되지는 않는다. 일부 구현예에서, 가교 요법은 적어도 LD 요법 14일 전에 중단된다. 일부 구현예에서, 가교 요법은 림프구 고갈 전 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 7일, 10일, 14일, 21일, 28일, 45일 또는 60일 전에 중단된다. 일부 구현예에서, 대상체들은 LD 화학 요법 전에 가교 요법 관련 독성들로부터 2급 이하로 회복되어야 한다.

[0133] 일부 구현예에서, 대상체에 예를 들어 주입 반응의 위험을 최소화하기 위해 사전 투약이 이루어진다. 일부 측면에서, 사전 투약은 통증 완화제 및/또는 항히스타민제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 사전 투약은 아세트아미노펜 및/또는 디펜히드라민, 또는 또 한 번의 H1-항히스타민제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 환자는 세포 요법으로 치료 전 (약) 30 내지 60분에 아세트아미노펜(예를 들어, 650mg 경구로) 및 디펜히드라민(예를 들어, $25\text{--}50\text{mg}$, IV 또는 경구로), 또는 또 한 번의 H1-항히스타민제가 투여된다.

- [0134] 일부 구현예에서, 대상체는 적어도 18세이다. 제공된 방법의 임의의 일부 구현예에서, 대상체는 인간 대상체이다.
- [0135] **A. 투약(dosing)**
- [0136] 일부 구현예에서, 조작된 세포의 일정 용량이 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 대상체에 투여된다. 일부 구현예에서, 용량의 크기 또는 투여 시기는 대상체에서 특정 질병 또는 병태에 대한 작용으로서 결정된다. 일부 경우에, 제공된 기재의 관점에서 특정 질병에 대한 용량의 크기 또는 투여 시기는 경험적으로 결정될 수 있다.
- [0137] 일부 구현예에서, 치료는 요법에 대한 대상체에 의한 면역 반응을 유도하지 않으며, 및/또는 질병 또는 병태의 효과적인 치료를 방해할 정도로 상기 반응을 유도하지 않는다. 일부 측면에서, 면역원성 및/또는 이식편 대 숙주 반응의 정도는 상이하지만 비교 가능한 치료로 관찰된 것보다 작다. 예를 들어, 제공된 항-BCMA 항체를 포함하는 CAR을 발현하는 세포를 이용한 입양 세포 요법의 경우, 일부 구현예에서 면역원성의 정도는, 유사한, 예를 들어 중첩 에피토프에 결합하고/거나 항체, 예컨대 마우스 또는 원숭이 또는 토끼 또는 인간화 항체와 BCMA 결합을 두고 경쟁하는, 상이한 항체를 포함한 CAR에 비해 감소된다.
- [0138] 일부 구현예에서, 본 방법은 입양 세포 요법을 포함하며, 이에 의해 BCMA-결합 분자(예를 들어, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 CAR)를 포함하는 제공된 재조합 수용체를 발현하는 유전자 조작된 세포를 대상체에 투여한다. 상기 투여는 BCMA-표적화 방식으로 세포의 활성화(예를 들어, T 세포 활성화)를 촉진할 수 있어서, 질병 또는 장애가 있는 세포가 파괴를 위해 표적화된다.
- [0139] 따라서, 제공된 방법 및 용도는 입양 세포 요법을 위한 방법 및 용도를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 대상체, 조직 또는 세포, 예컨대, 질병, 병태 또는 장애가 있거나, 이를 가질 위험이 있거나 또는 가질 것으로 의심되는 것에 세포 또는 세포를 함유하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포, 집단 및 조성물이 치료될 특정 질병 또는 병태가 있는 대상체에, 예를 들어 입양 T 세포 요법과 같은 입양 세포 요법을 통해 투여된다. 일부 구현예에서, 세포 또는 조성물은 대상체, 예컨대 질병 또는 병태가 있거나 이를 가질 위험이 있는 대상체에 투여된다. 일부 측면에서, 본 방법은 예컨대 BCMA-발현 암에서 종양 부담을 감소시킴으로써, 이에 의해 질병 또는 병태의 하나 이상의 증상을 치료한다(예를 들어, 개선한다).
- [0140] 입양 세포 요법을 위한 세포의 투여 방법은 알려져 있으며 제공된 방법 및 조성물과 관련하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 입양 T 세포 요법 방법은 예를 들어 문헌[미국 특허 출원 공개 번호 2003/0170238(Gruenberg et al); 미국 특허 번호 4,690,915(Rosenberg); Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85]에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Themeli 등 (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933; Tsukahara 등 (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila 등 (2013) PLoS ONE 8(4): e61338]을 참조한다.
- [0141] 일부 구현예에서, 세포 요법, 예를 들어, 입양 세포 요법, 예를 들어, 입양 T 세포 요법은 자가 전달에 의해 수행되며, 세포는 세포 요법을 받을 대상체 또는 상기 대상체로부터 유래된 샘플로부터 단리 및/또는 달리 제조된다. 따라서, 일부 측면에서, 세포는 치료가 필요한 대상체, 예를 들어, 환자로부터 유래되고, 세포는 단리 및 가공 후에 동일한 대상체에 투여된다.
- [0142] 일부 구현예에서, 세포 요법, 예를 들어, 입양 세포 요법, 예를 들어, 입양 T 세포 요법은 동종이계 전달에 의해 수행되며, 세포는 세포 요법을 받을 예정이거나 최종적으로 받는 대상체, 예를 들어, 제1 대상체 외의 대상체로부터 단리 및/또는 달리 제조된다. 상기 구현예에서, 세포는 이어서 같은 종의 상이한 대상체, 예를 들어, 제2 대상체에 투여된다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 대상체는 유전적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 대상체는 유전적으로 유사하다. 일부 구현예에서, 제2 대상체는 제1 대상체와 동일한 HLA 클래스(HLA class) 또는 수퍼타입(supertype)을 발현한다.
- [0143] 일부 구현예에서, 세포, 세포 집단 또는 조성물이 투여되는 대상체는 인간과 같은 영장류이다. 일부 구현예에서, 세포, 세포 집단 또는 조성물이 투여되는 대상체는 비인간 영장류이다. 일부 구현예에서, 비인간 영장류는 원숭이(예를 들어, 시노몰구스 원숭이) 또는 유인원(ape)이다. 대상체는 남성(수컷) 또는 여성(암컷)일 수 있으며, 유아, 소아, 청소년, 성인 및 노인 대상체를 포함한 임의의 적합한 연령일 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 설치류(예를 들어, 마우스, 랫트 등)와 같은 비영장류 포유 동물이다. 일부 예에서, 환자 또는 대상체는 질병, 입양 세포 요법 및/또는 사이토카인 방출 증후군(CRS)과 같은 독성 결과물의 평가를 위한 검증된 동물 모델이다.

- [0144] 재조합 수용체(예를 들어, CAR)와 같은 BCMA-결합 분자 및 상기를 발현하는 세포는, 임의의 적합한 수단, 예를 들어, 주사, 예를 들어, 정맥내 또는 피하 주사, 안구내(intraocular) 주사, 안구주위(periorcular) 주사, 망막하(subretinal) 주사, 유리체내(intravitreal) 주사, 중격-경유성(trans-septal) 주사, 공막하(subscleral) 주사, 맥락막내(intrachoroidal) 주사, 전방내(intracameral) 주사, 결막 하(subconjunctival) 주사, 서브 테논(sub-Tenon) 주사, 안구뒤(retrobulbar) 주사, 안구주위(peribulbar) 주사 또는 후부 점막 주사(posterior juxtascleral) 전달에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 이들은 비경구, 폐내 및 비강내 및 국소 치료가 바람직한 경우 병변내 투여에 의해 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 두개내, 흉부내 또는 피하 투여를 포함한다. 투약 및 투여는 투여가 단기인지 장기인지에 따라 부분적으로 달라질 수 있다. 다양한 투약 스케줄은 다양한 시점에 걸쳐 단일 또는 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입을 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0145] 질병의 예방 또는 치료를 위해, 결합 분자, 재조합 수용체 또는 세포의 적절한 투여량은 치료될 질병의 유형, 결합 분자 또는 재조합 수용체의 유형, 질병의 중증도 및 진행 과정, 결합 분자 또는 재조합 수용체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 선행 요법, 환자의 임상 이력 및 재조합 수용체 또는 세포에 대한 반응 및 주치의의 판단에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서 조성물 및 분자 및 세포는 한 번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적합하게 투여된다.
- [0146] 일부 구현예에서, 본 방법은 조작된 세포 용량 또는 조작된 세포 용량을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 조작된 세포 또는 조작된 세포를 함유하는 조성물은 치료 계획에 사용될 수 있으며, 여기서 치료 계획은 조작된 세포의 용량 또는 조작된 세포의 용량을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 예를 들어 본원에 기재된 임의의 수의 상기 세포와 같은 특정 수 또는 범위의 재조합 수용체 발현 T 세포, 총 T 세포 또는 총 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 일정 용량의 세포를 함유하는 조성물이 투여될 수 있다. 일부 측면에서, 세포 집단 또는 세포 조성물에서 CAR 발현 (CAR+) 세포의 수, 양 또는 비율은 본원에 제공된 결합 분자 또는 수용체에 특이적으로 결합할 수 있는, 대리 표지자 검출에 의해, 예를 들어 유세포 분석 또는 다른 수단에 의해, 또는 표지된 항원과 같은 표지된 분자의 결합을 검출함으로써 평가될 수 있다.
- [0147] 제공된 임의의 구현예의 일부에서, BCMA-지시된 CAR을 발현하는 조작된 T 세포와 같은 T 세포의 용량은 CD3+ T 세포, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포 또는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포에 대해 농축되거나 또는 농축된 세포 조성물 또는 세포 집단을 포함한다. 상기 임의의 일부 구현예에서, T 세포의 용량 중 세포의 (약) 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98% 초과는 CD3+ T 세포, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포 또는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포이다. 상기 임의의 일부 구현예에서, T 세포의 용량 중 세포의 (약) 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98% 초과는 CD3+ T 세포이다. 제공된 임의의 구현예의 일부에서, T 세포의 용량은 CD4+ 세포 및 CD8+ 세포 둘 모두를 포함한다. 상기 임의의 일부 구현예에서, T 세포의 용량 중 세포의 (약) 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98% 초과는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포이다.
- [0148] 일부 구현예에서, 세포의 용량은 대상체의 체중 킬로그램 당 BCMA-지시된 CAR 조작된 세포 수(cells/kg)를 (약) 0.1×10^5 내지 (약) 2×10^6 개 세포/kg, 예컨대 (약) 0.1×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 0.5×10^5 개 세포/kg, (약) 0.5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 1×10^5 개 세포/kg, (약) 1×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 1.5×10^5 개 세포/kg, (약) 1.5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 2×10^5 개 세포/kg, (약) 2×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 2.5×10^5 개 세포/kg, (약) 2.5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 3×10^5 개 세포/kg, (약) 3×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 3.5×10^5 개 세포/kg, (약) 3.5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 4×10^5 개 세포/kg, (약) 4×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 4.5×10^5 개 세포/kg, (약) 4.5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 5×10^5 개 세포/kg, (약) 5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 5.5×10^5 개 세포/kg, (약) 5.5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 6×10^5 개 세포/kg, (약) 6×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 6.5×10^5 개 세포/kg, (약) 6.5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 7×10^5 개 세포/kg, (약) 7×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 7.5×10^5 개 세포/kg, (약) 7.5×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 8×10^5 개 세포/kg, 또는 (약) 8×10^5 개 세포/kg 내지 (약) 10×10^5 개 세포/kg을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 용량은 대상체의 체중 킬로그램 당 BCMA-지시된 CAR 조작된 세포 수(cells/kg)를 2×10^5 개 이내, 예컨대 (약) 3×10^5 개 이내 세포/kg, (약) 4×10^5 개 이내 세포/kg, (약) 5×10^5 개 이내 세포/kg, (약) 6×10^5 개 이내 세포/kg, (약) 7×10^5 개 이

내 세포/kg, (약) 8×10^5 개 이내 세포/kg, (약) 9×10^5 개 이내 세포/kg, (약) 1×10^6 개 이내 세포/kg 또는 (약) 2×10^6 개 이내 세포/kg을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 용량은 대상체의 체중 킬로그램 당 BCMA-지시된 CAR 조작된 세포 수(cells/kg)를 적어도 (약) 또는 (약) 0.1×10^5 개, 예컨대 적어도 (약) 또는 (약) 0.2×10^5 개 세포/kg, 적어도 (약) 또는 (약) 0.3×10^5 개 세포/kg, 적어도 (약) 또는 (약) 0.4×10^5 개 세포/kg, 적어도 (약) 또는 (약) 0.5×10^5 개 세포/kg, 적어도 (약) 또는 (약) 0.6×10^5 개 세포/kg, 적어도 (약) 또는 (약) 0.7×10^5 개 세포/kg, 적어도 (약) 또는 (약) 0.8×10^5 개 세포/kg, 적어도 (약) 또는 (약) 0.9×10^5 개 세포/kg, 적어도 (약) 또는 (약) 0.1×10^6 개 세포/kg, 또는 적어도 (약) 또는 (약) 0.2×10^6 개 세포/kg을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포, 예를 들어 생존 T 세포 예컨대 BCMA-지시된 CAR을 발현하는 생존 CD3+ 세포의 수이다.

[0149] 특정 구현예에서, 세포 또는 세포의 아형의 개별 집단은 (약) 10만 내지 (약) 1000억 세포의 범위로 및/또는 대상체의 체중 kg 당 세포의 양으로, 예컨대, 예를 들어, (약) 10만 내지 (약) 500억 세포(예를 들어, (약) 5백만 세포, (약) 2천5백만 세포, (약) 5억 세포, (약) 10억 세포, (약) 50억 세포, (약) 200억 세포, (약) 300억 세포, (약) 400억 세포 또는 전술한 수치 중 임의의 2개에 의해 정의되는 범위), (약) 1백만 내지 (약) 500억 세포(예를 들어, (약) 5백만 세포, (약) 2천5백만 세포, (약) 5억 세포, (약) 10억 세포, (약) 50억 세포, (약) 200억 세포, (약) 300억 세포, (약) 400억 세포 또는 전술한 수치 중 임의의 2개에 의해 정의되는 범위), 예컨대 (약) 1천만 내지 (약) 1000억 세포(예를 들어, (약) 2천만 세포, (약) 3천만 세포, (약) 4천만 세포, (약) 6천만 세포, (약) 7천만 세포, (약) 8천만 세포, (약) 9천만 세포, (약) 100억 세포, (약) 250억 세포, (약) 500억 세포, (약) 750억 세포, (약) 900억 세포 또는 전술한 수치 중 임의의 2개에 의해 정의되는 범위) 및 일부 경우에 (약) 1억 세포 내지 (약) 500억 세포(예를 들어, (약) 1억2천만 세포, (약) 2억5천만 세포, (약) 3억5천만 세포, (약) 6억5천만 세포, (약) 8억 세포, (약) 9억 세포, (약) 30억 세포, (약) 300억 세포, (약) 450억 세포) 또는 상기 범위 사이의 임의의 수치 및/또는 대상체의 체중 kg당 세포의 양으로 대상체에 투여된다. 투여량은 질병 또는 장애 및/또는 환자 및/또는 다른 치료의 구체적인 속성에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 수치는 제조할 수용체 발현 세포의 수를 지칭하고; 다른 구현예에서, 이는 투여되는 조성물 중 T 세포 또는 총 세포의 수를 지칭한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0150] 일부 구현예에서, 세포의 용량은 세포의 용량이 대상체의 체표면적 또는 체중에 결부되거나 그에 기초하지 않는 세포의 균일한 용량 또는 세포의 고정된 용량이다.

[0151] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 1×10^5 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^5 내지 (약) 2.2×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^5 내지 (약) 2.0×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^5 내지 (약) 1.8×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^5 내지 (약) 1.6×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^5 내지 (약) 1.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^5 내지 (약) 1.2×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^5 내지 (약) 1.0×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^6 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^6 내지 (약) 2.2×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^6 내지 (약) 2.0×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^6 내지 (약) 1.8×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^6 내지 (약) 1.6×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^6 내지 (약) 1.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^6 내지 (약) 1.2×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 1×10^6 내지 (약) 1.0×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 5×10^6 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 5×10^6 내지 (약) 2.2×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 5×10^6 내지 (약) 2.0×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 5×10^6 내지 (약) 1.8×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 5×10^6 내지 (약) 1.6×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 5×10^6 내지 (약) 1.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, (약) 5×10^6 내지 (약) 1.2×10^8 개

[illegible]

를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 5.5×10^7 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 6×10^7 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 6.5×10^7 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 7×10^7 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 7.5×10^7 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 8×10^7 내지 (약) 2.4×10^8 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포, 예컨대 생존 T 세포의 수이다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 CD3+ 세포의 수이다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 CD4+ 또는 CD8+ 세포의 수이다.

[0153]

[illegible]

[illegible]

[0154] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 적어도 또는 적어도 약 1×10^5 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, 적어도 또는 적어도 약 2.5×10^5 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, 적어도 또는 적어도 약 5×10^5 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, 적어도 또는 적어도 약 1×10^6 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, 적어도 또는 적어도 약 2.5×10^6 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, 적어도 또는 적어도 약 5×10^6 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, 적어도 또는 적어도 약 1×10^7 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, 적어도 또는 적어도 약 2.5×10^7 개 BCMA-지시된 CAR 발현 총 T 세포, 또는 적어도 또는 적어도 약 5×10^7 개 BCMA-지시된 CAR 발현

총 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포, 예컨대 생존 T 세포의 수이다.

[0155] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 1×10^5 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 2.5×10^5 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 5×10^5 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 1×10^6 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 2.5×10^6 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 5×10^6 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 1×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 1.5×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 2×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 2.5×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 3×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 3.5×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 4×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, (약) 4.5×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포, 또는 (약) 5×10^7 개 미만 BCMA-지시된 CAR 발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포, 예컨대 생존 T 세포의 수이다.

[0156] 일부 구현예에서, 세포 요법은 (약) 1×10^5 개 내지 (약) 1×10^8 개 총 재조합 수용체 발현 세포 또는 총 T 세포, (약) 5×10^5 개 내지 (약) 5×10^7 개 총 재조합 수용체 발현 세포 또는 총 T 세포, 또는 (약) 1×10^6 개 내지 (약) 1×10^7 개 총 재조합 수용체 발현 세포 또는 총 T 세포(각 수치 포함)의 세포 수를 포함하는 용량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포 요법은 의 단위 용량은 (약) 1×10^5 개 내지 (약) 1×10^8 개 총 재조합 수용체 발현 세포 또는 총 T 세포, (약) 5×10^5 개 내지 (약) 1×10^8 개 총 재조합 수용체 발현 세포 또는 총 T 세포, (약) 1×10^6 개 내지 (약) 50×10^6 개 총 재조합 수용체 발현 세포 또는 총 T 세포, (약) 5×10^6 개 내지 (약) 45×10^6 개 총 재조합 수용체 발현 세포 또는 총 T 세포, 또는 (약) 10×10^6 개 내지 (약) 25×10^6 개 총 재조합 수용체 발현 세포 또는 총 T 세포(각 수치 포함)의 세포 수를 포함하는 용량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포 요법은 적어도 또는 적어도 약 1×10^5 개 총 재조합 수용체-발현 세포 또는 총 T 세포, 예컨대 적어도 또는 적어도 약 1×10^6 개, 적어도 또는 적어도 약 1×10^7 개, 적어도 또는 적어도 약 1×10^8 개의 상기 세포의 수를 포함하는 세포의 용량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포, 예컨대 생존 T 세포의 수이다.

[0157] 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 용량은 (약) 5×10^6 개 초과와 총 CAR-발현(CAR+) T 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 및 (약) 100×10^6 개 미만의 총 CAR-발현 T 세포, T 세포, 또는 PBMC를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 5×10^6 내지 (약) 10×10^6 개 총 CAR-발현(CAR+) T 세포, (약) 10×10^6 내지 (약) 15×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 15×10^6 내지 (약) 20×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 20×10^6 내지 (약) 25×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 25×10^6 내지 (약) 30×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 30×10^6 내지 (약) 35×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 35×10^6 내지 (약) 40×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 40×10^6 내지 (약) 45×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 45×10^6 내지 (약) 50×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 50×10^6 내지 (약) 55×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 55×10^6 내지 (약) 60×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 60×10^6 내지 (약) 65×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 65×10^6 내지 (약) 70×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 70×10^6 내지 (약) 75×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 75×10^6 내지 (약) 80×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 80×10^6 내지 (약) 85×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 85×10^6 내지 (약) 90×10^6 개 CAR+ T 세포, (약) 90×10^6 내지 (약) 95×10^6 개 CAR+ T 세포, 또는 (약) 95×10^6 내지 (약) 100×10^6 개 CAR+ T 세포(각 수치 포함)를 포함한다. 임의의 선행 구현예에서, CAR+ T 세포는 BCMA-55로부터 유래된 것과 같은 BCMA-표적화 CAR를 발현한다.

[0158] 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 용량은 (약) 5×10^6 개 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가

인간인 경우, 용량은 (약) 10×10^6 개 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 용량은 (약) 20×10^6 개 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 용량은 (약) 30×10^6 개 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 용량은 (약) 40×10^6 개 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 용량은 (약) 60×10^6 개 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 용량은 (약) 80×10^6 개 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 포함한다.

[0159] 일부 구현예에서, 상기 수는 CD3+ 또는 CD8+, 일부 경우에는 또한 CAR-발현(예를 들어, CAR+) 세포의 총 수를 기준으로 한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 1×10^7 내지 (약) 1.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 1.5×10^7 내지 (약) 2×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 2×10^7 내지 (약) 2.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 2.5×10^7 내지 (약) 3×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 3×10^7 내지 (약) 3.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 3.5×10^7 내지 (약) 4×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 4×10^7 내지 (약) 4.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 4.5×10^7 내지 (약) 5×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 5×10^7 내지 (약) 5.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 5.5×10^7 내지 (약) 6×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 6×10^7 내지 (약) 6.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, (약) 6.5×10^7 내지 (약) 7.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포, 또는 (약) 7.5×10^7 내지 (약) 8×10^7 개 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ CAR-발현 세포(각 수치 포함)를 포함한다.

[0160] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 CD3+ CAR-발현(CAR+) 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현(CAR+) 세포의 총 수를 기준으로 한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약) 1×10^7 내지 (약) 1.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 1.5×10^7 내지 (약) 2×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 2×10^7 내지 (약) 2.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 2.5×10^7 내지 (약) 3×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 3×10^7 내지 (약) 3.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 3.5×10^7 내지 (약) 4×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 4×10^7 내지 (약) 4.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 4.5×10^7 내지 (약) 5×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 5×10^7 내지 (약) 5.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 5.5×10^7 내지 (약) 6×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 6×10^7 내지 (약) 6.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, (약) 6.5×10^7 내지 (약) 7.5×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포, or (약) 7.5×10^7 내지 (약) 8

$\times 10^7$ 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포(각 수치 포함)를 포함한다.

[0161] 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 1.0×10^7 , 2.0×10^7 , 3.0×10^7 , 4.0×10^7 , 6.0×10^7 , 또는 8.0×10^7 개 CD3+ 또는 CD4+/CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ CAR-발현 또는 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 1.0×10^7 , 2.0×10^7 , 3.0×10^7 , 4.0×10^7 , 6.0×10^7 , 또는 8.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 1.0×10^7 , 2.0×10^7 , 3.0×10^7 , 4.0×10^7 , 6.0×10^7 , 또는 8.0×10^7 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포를 포함한다.

[illegible]

[0163] 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 1.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 2.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 3.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 4.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 5.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 6.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 7.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 8.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 9.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 10.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 11.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 12.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 13.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포,

(약) 14.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 15.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 16.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 17.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 18.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 19.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 20.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 21.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 22.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, (약) 23.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포, 또는 (약) 24.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포이다.

[0164] 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 1.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 2.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 3.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 4.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 6.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 8.0×10^8 개 CD3+ CAR-발현 세포이다.

[0165] 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 8.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 16.0×10^7 개 CD3+ CAR-발현 세포이다.

[0166] 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 1.0×10^7 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 2.0×10^7 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 3.0×10^7 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 4.0×10^7 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 6.0×10^7 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 8.0×10^8 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포이다.

[0167] 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 8.0×10^7 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 용량은 (약) 16.0×10^7 개 CD4+/CD8+ CAR-발현 세포이다.

[0168] 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어 재조합 수용체-발현 T 세포의 용량이 단일 용량으로 대상체에 투여되거나 2주, 1개월, 3개월, 6개월, 1년 이상의 기간 내에 1회만 투여된다. 일부 구현예에서, 환자는 다중 용량을 투여받고, 각각의 용량 또는 총 용량은 전술한 수치 중 어느 하나 내에 있을 수 있다.

[0169] 일부 구현예에서, 투여를 위한 조작된 세포 또는 투여를 위한 조작된 세포의 조성물은 세포 건강을 나타내거나 이와 일치하는 특성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 상기 용량의 (약) 또는 적어도 (약) 70, 75, 80, 85 또는 90%의 CAR+ 세포는 세포자멸사 표지자의 발현 부재와 같은, 세포 건강 또는 생물학적으로 활성인 CAR 세포를 나타내는 하나 이상의 특성 또는 표현형을 나타낸다.

[0170] 구체적인 구현예에서, 표현형은 세포자멸사의 부재 및/또는 세포가 세포자멸사 과정을 겪고 있다는 표시이거나 이를 포함한다. 세포자멸사(apoptosis)는 블레빙(blebbing), 세포 수축, 핵 단편화, 염색질 축합, 염색체 DNA 단편화 및 전체적인 mRNA 붕괴를 포함하여, 특징적인 세포 변화 및 사멸로 이어지는 일련의 고정된 형태적 및 생화학적 사건을 포함하는 세포예정사의 과정이다. 일부 측면에서, 세포자멸사의 초기 단계는 특정 카스파제, 예를 들어 2, 8, 9 및 10의 활성화로 표시될 수 있다. 일부 측면에서, 세포자멸사의 중기 내지 말기 단계는 막 완전성의 추가 손실, 염색질 축합 및 DNA 단편화를 특징으로 하며, 카스파제 3, 6 및 7의 활성화와 같은 생화학적 사건을 포함한다.

[0171] 구체적인 구현예에서, 표현형은 세포예정사와 관련된 하나 이상의 인자, 예를 들어 세포자멸사, 예를 들어 사멸 수용체 경로의 멤버, 미토콘드리아(내인성) 경로의 활성화된 멤버, 예컨대 Bax, Bad 및 Bid와 같은 Bcl-2 계열 멤버 및 카스파제를 개시하는 것으로 알려진 전-세포자멸사 인자의 음성 발현이다. 특정 구현예에서, 표현형은 세포 조성물과 함께 인큐베이션되거나 세포 조성물과 접촉할 때 세포자멸사를 겪는 세포에 우선적으로 결합하는 지표(예를 들어 아넥신 V 분자)의 부재 또는 TUNEL 염색에 의한 이의 부재이다. 일부 구현예에서, 표현형은 세포에서 세포자멸사 상태를 나타내는 하나 이상의 표지자의 발현이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 표현형은 카스파제 3과 같은 카스파제의 발현 및/또는 활성화의 결여이다. 일부 측면에서, 카스파제-3의 활성화는 세포자멸사의 증가 또는 재생을 나타낸다. 특정 구현예에서, 카스파제 활성화는 알려진 방법에 의해 검출될 수 있

다. 일부 구현예에서, 활성화된 카스파제에 특이적으로 결합하는 (즉, 절단된 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하는) 항체가 카스파제 활성화를 검출하는 데 사용될 수 있다. 구체적인 구현예에서, 표현형은 활성 카스파제 3- 이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포자멸사의 표지자는 세포자멸사와 관련된 세포 내 특징을 검출하는 시약이다. 특정 구현예에서, 상기 시약은 아넥신 V 분자이다.

[0172] 일부 구현예에서, 투여를 위한 조작된 세포를 함유하는 조성물은 세포 건강을 나타내거나 또는 이와 일치하는 표현형을 나타내는 특정 수 또는 양의 세포를 함유한다. 일부 구현예에서, 조작된 T 세포의 용량에서 CAR-발현 T 세포의 약 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1% 미만이 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 일부 구현예에서, 조작된 T 세포의 용량에서 CAR-발현 T 세포의 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1% 미만이 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다.

[0173] 일부 구현예에서, 세포, 결합 분자 또는 재조합 수용체는 병용 치료의 일부로서, 다른 치료적 개입, 예컨대 다른 항체 또는 조작된 세포 또는 수용체 또는 제제, 예컨대 세포독성제 또는 치료제와 예컨대 동시에 또는 순차적으로, 임의의 순서로 투여된다.

[0174] 일부 구현예에서, 세포, 결합 분자 및/또는 재조합 수용체는 하나 이상의 추가 치료제 또는 다른 치료적 개입과 관련하여 동시에 또는 순차적으로, 임의의 순서로 공동-투여된다. 일부 맥락에서, 세포는 세포 집단이 하나 이상의 추가 치료제의 효과를 강화하도록(또는 그 역으로 강화하도록) 하는 데 충분히 가까운 시점에 다른 요법과 공동-투여된다. 일부 구현예에서, 세포, 결합 분자 및/또는 재조합 수용체는 하나 이상의 추가 치료제보다 앞서 투여된다. 일부 구현예에서, 세포, 결합 분자 및/또는 재조합 수용체는 하나 이상의 추가 치료제 이후에 투여된다.

[0175] B. 반응, 효능, 및 생존

[0176] 일부 구현예에서, 투여의 용량 및/또는 빈도는 효능 및/또는 반응에 기초하여 결정된다. 일부 구현예에서, 효능은 질병 상태를 평가함으로써 결정된다. 질병 상태를 평가하기 위한 예시적인 방법은 전기영동 및 면역 고정에 의해 혈액 및/또는 소변과 같은 생물학적 유체에서 M 단백질의 측정; 혈액에서 sFLC(κ 및 λ)의 정량화; 골격 검사; 및 골수의 질병이 있는 대상체에서 양전자 방사 단층 촬영(positron emission tomography, PET)/컴퓨터 단층 촬영(computed tomography, CT)에 의한 영상화를 포함한다. 일부 구현예에서, 질병 상태는 골수 검사에 의해 평가될 수 있다. 일부 예에서, 투여의 용량 및/또는 빈도는 혈액 및/또는 골수에서 재조합 수용체 또는 세포의 증폭 및 지속성에 의해 결정된다. 일부 구현예에서, 투여의 용량 및/또는 빈도는 재조합 수용체 또는 조작된 세포의 항종양 활성에 기초하여 결정된다. 일부 구현예에서 항종양 활성은 전체 반응률(overall response rate, ORR) 및/또는 국제 골수종 워킹 그룹(International Myeloma Working Group, IMWG) 균일한 반응 기준(Uniform Response Criteria)에 의해 결정된다(문헌[Kumar 등 (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346] 참조). 일부 구현예에서, 반응은 최소 잔존 질병(minimal residual disease, MRD) 평가를 사용하여 평가된다. 일부 구현예에서, MRD는 유세포 분석 및 고처리량 염기서열 분석(sequencing), 예를 들어, 심층 염기서열분석(deep sequencing)과 같은 방법에 의해 평가될 수 있다. 일부 측면에서, MRD-음성 질병이 있는 대상체는 10^5 개의 유핵 세포 중 1 또는 그 이상의 최소 민감도(즉, 10^{-5} 민감도)를 이용한 분석법, 예컨대 유세포 분석(차세대 유세포 분석; NGF) 또는 고처리량 염기서열 분석, 예를 들어 심층 염기서열분석 또는 차세대 염기서열 분석(NGS)에 의해 배제된, 골수 흡인물 상에서 비정상적인 클론성 형질 세포의 부재를 나타내는 대상체를 포함한다.

[0177] 일부 측면에서, 지속된 MRD-음성은 골수에서 MRD 음성(NGF 또는 NGS, 또는 둘 다)을 나타내고 하기 정의된 바와 같은 영상화에 의해 최소 1년 간격으로 확인된 대상체를 포함한다. 후속 평가를 사용하여 음성의 기간(예를 들어, 5년에 MRD-음성)을 명확히할 수 있다. 일부 측면에서, 유동 MRD-음성은 다발성 골수종에서 10^5 개 유핵 세포 중 1 이상의 최소 민감도로 MRD 검출을 위한 EuroFlow 표준 작업 절차(또는 검증된 등가의 방법)를 이용하여 골수 흡인물 상에서 NGF에 의해 표현형적으로 비정상인 클론성 형질 세포의 부재를 나타내는 대상체를 포함한다. 일부 측면에서, 염기서열 분석 MRD-음성은, 클론의 존재가 10^5 개 유핵 세포 중 1 또는 그 이상의 최소 민감도로 LymphoSIGHT 플랫폼(또는 검증된 등가의 방법)을 이용하여 골수 흡인물의 DNA 염기서열 분석 이후 수득된 2개 미만의 동일한 염기서열 분석 판독물로 정의되는, 골수 흡인물 상에서 NGS에 의해 클론성 형질 세포의 부재를 나타내는 대상체를 포함한다. 일부 측면에서, 영상화 플러스 MRD-음성은 NGF 또는 NGS에 의해 평가된 MRD 음성 플러스 기준선 또는 선행 PET/CT에서 발견된 증가된 트레이서 흡수의 모든 영역의 소실 또는 더 적은 종격동 혈액 풀 SUV로의 감소 또는 주변 정상 조직의 것보다 더 적은 것으로의 감소를 나타내는 대상체를 포함한다(문헌 [Kumar 등 (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346] 참조).

- [0178] 일부 구현예에서, 반응은 제조할 수용체 또는 세포의 투여 후 반응 지속 기간에 기초하여 평가된다. 일부 예에서, 투여의 용량 및/또는 빈도는 독성에 기초할 수 있다. 일부 구현예에서, 투여의 단위 용량 및/또는 빈도는 제조할 수용체 및/또는 세포가 투여되는 대상체의 건강 관련 삶의 질(health-related quality of life, HRQoL)에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 투여의 용량 및/또는 빈도는 상기 기준 중 어느 하나에 기초하여 변경, 즉, 증가 또는 감소될 수 있다.
- [0179] 일부 측면에서, 대상체의 생존, 특정 기간 내의 생존, 생존의 정도, 무사건 또는 무증상 생존의 존재 또는 지속 기간, 또는 재발 없는 생존을 평가한다. 일부 구현예에서, 질병 또는 병태의 임의의 증상을 평가한다. 일부 구현예에서, 종양 부담의 척도가 명시된다. 일부 구현예에서, 결정을 위한 예시적인 매개변수는 종양의 개선 또는 향상을 나타내는 구체적인 임상 결과를 포함한다. 이러한 매개변수에는: 객관적 반응(OR), 완전 반응(CR), 엄격한 완전 반응(sCR), 매우 양호한 부분 반응(VGPR), 부분 반응(PR), 최소 반응(MR), 안정 병변(SD), 진행성 병변(PD) 또는 재발(예를 들어, 문헌[International Myeloma Working Group (IMWG) Uniform Response Criteria; see Kumar 등 (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346]), 객관적 반응률(ORR), 무진행 생존(PFS) 및 전체 생존율(OS)을 포함한 질병 조절의 기간이 포함된다. 일부 구현예에서, 반응은 최소 잔존 질병(minimal residual disease, MRD) 평가를 사용하여 평가된다. 본원에 제공된 방법의 효능을 알아내기 위해 상기 매개변수에 대한 구체적인 임계값을 설정할 수 있다. 일부 구현예에서, 치료될 질병 또는 장애는 다발성 골수종이다. 일부 구현예에서, 다발성 골수종에 대한 측정 가능한 질병 기준은 (1) 혈청 M-단백질 1g/dL 이상; (2) 소변 M-단백질 200mg 이상/24시간; (3) 수반된 비정상적인 κ 대 λ 의 비로 무혈청 경쇄(serum free light chain, sFLC) 수준 10 mg/dL 이상을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 경쇄 질병은 혈청 또는 소변에서 측정 가능한 질병이 없는 대상체에 대해서만 허용 가능하다.
- [0180] 일부 측면에서, 예를 들어 제공된 구현예들에 따른, 요법에 대한 반응은 세포 요법의 투여 개시 후 지정된 시점에 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 지정된 시점은 투여 개시 후 (약) 1, 2, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 또는 36개월, 또는 전술한 수치 중 임의의 것에 의해 정의되는 범위 이내이다. 일부 구현예에서, 지정된 시점은 투여 개시 후 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 48 또는 52개월, 또는 전술한 수치 중 임의의 것에 의해 정의되는 범위 이내이다. 일부 구현예에서, 지정된 시점은 투여 개시 후 (약) 1개월이다. 일부 구현예에서, 지정된 시점은 투여 개시 후 (약) 3개월이다. 일부 구현예에서, 지정된 시점은 투여 개시 후 (약) 6개월이다. 일부 구현예에서, 지정된 시점은 투여 개시 후 (약) 9개월이다. 일부 구현예에서, 지정된 시점은 투여 개시 후 (약) 12개월이다.
- [0181] 일부 구현예에서, 지정된 시점 이후 (약) 3, 6, 9 또는 12개월에 판정된 반응 또는 결과는 최초 지정된 시점에 판정된 반응 또는 결과와 비교하여 동일하거나 개선된다. 예를 들어, 일부 측면에서, 최초 지정된 시점에 판정된 반응 또는 결과가 안정 병변(SD), 진행성 병변(PD) 또는 재발이면, 제공된 구현예들에 따라 치료받은 대상체는 최초 지정된 시점 이후 (약) 3, 6, 9 또는 12개월 이후 후속 시점에, 최초 지정된 시점의 반응 또는 결과, 또는 객관적 반응(OR), 완전 반응(CR), 엄격한 완전 반응(sCR), 매우 양호한 부분 반응(VGPR) 또는 부분 반응(PR)인 반응 또는 결과와 동일하거나 개선된 반응 또는 결과(국제 골수종 워킹 그룹(International Myeloma Working Group, IMWG) 균일한 반응 기준(Uniform Response Criteria)에 따른 더 나은 반응 결과를 나타냄; 문헌[Kumar 등 (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346] 참조)를 보일 수 있다. 일부 측면에서, 제공된 구현예들에 따라 치료받은 대상체는 2개의 판정 시점 사이에 개선된 반응 또는 결과를 보일 수 있다. 일부 측면에서, 대상체는, 예를 들어 투여 개시 이후 4주에, 평가를 위해 최초 지정된 시점에 PR 또는 VGPR을 나타내고, 이어서 이후 시점에 예를 들어 투여 개시 이후 12주에 CR 또는 sCR과 같은 개선된 반응을 나타낼 수 있다. 일부 측면에서, 무진행 생존(progression-free survival, PFS)은 대상체가 질병을 갖고 살지만 악화되지 않는 암과 같은 질병의 치료 중 및 치료 후의 시간 길이로 설명된다. 일부 측면에서, 객관적 반응(objective response, OR)은 측정 가능한 반응으로 설명된다. 일부 측면에서, 객관적 반응률(objective response rate, ORR; 일부 경우에 전체 반응률로도 알려짐)은 CR 또는 PR을 달성한 환자의 비율로 설명된다. 일부 측면에서, 전체 생존율(overall survival, OS)은 질병으로 진단된 대상체가 여전히 살아 있는, 암과 같은 질병에 대한 진단일 또는 치료 시작 중 하나로부터의 시간 길이로 설명된다. 일부 측면에서, 무사건 생존(event-free survival, EFS)은, 암에 대한 치료가 끝난 후, 치료가 예방 또는 지연하도록 의도한 특정 합병증 또는 사건이 없는 채로 대상체가 존속하는 시간의 길이로 설명된다. 상기 사건은 암이 뼈에 전파되어 일으키는 뼈 통증과 같은 특정 증상의 개시 또는 암의 재발 또는 죽음을 포함할 수 있다.
- [0182] 일부 구현예에서, 반응 지속 기간(duration of response, DOR)의 척도는 종양 반응의 기록에서 질병 진행까지의 시간을 포함한다. 일부 구현예에서, 반응을 평가하기 위한 매개변수에는 장기 지속적인 반응, 예를 들어, 요법

개시로부터 일정 기간 후에 지속되는 반응이 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 장기 지속적인 반응은 요법 개시 후 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 또는 24개월에서의 반응물로 표시된다. 일부 구현예에서, 반응 또는 결과는 (약) 3, 6, 9 또는 12개월 넘는 기간 동안 지속된다.

[0183] 일부 구현예에서, ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도 지표는 치료를 위한 대상체, 예를 들어 선행 요법으로부터 성과가 좋지 않았던 대상체를 평가하거나 선별하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌 [Oken 등(1982) Am J Clin Oncol. 5:649-655] 참조). 수행도의 ECOG 척도는 스스로를 돌보는 능력, 일상 활동 및 신체 능력(예를 들어, 걷기, 일하기 등)의 관점에서 환자의 기능 수준을 설명한다. 일부 구현예에서, 0의 ECOG 수행도는 대상체가 정상적인 활동을 수행할 수 있음을 나타낸다. 일부 측면에서, 1의 ECOG 수행도를 갖는 대상체는 신체 활동에 일부 제한을 보이거나 대상체는 완전히 보행할 수 있다. 일부 측면에서, 2의 ECOG 수행도를 갖는 환자는 50% 이상 보행할 수 있다. 일부 경우에, 2의 ECOG 수행도를 갖는 대상체는 스스로를 돌볼 수도 있다; 예를 들어, 문헌[Sorensen 등, (1993) Br J Cancer 67(4) 773-775]을 참조한다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 방법 또는 치료 계획에 따라 투여받을 대상체는 0 또는 1의 ECOG 수행도를 가진 대상체를 포함한다.

[0184] 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따른 투여는 대상체가 다른 요법에 내성이 있더라도 대상체를 효과적으로 치료한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 구현예들에 따라 대상체에게 투여될 때, 용량 또는 조성물은 투여받은 대상체의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 이상에서 객관적 반응(objective response, OR)을 달성할 수 있다. 일부 구현예에서, OR은 엄격한 완전 반응(stringent complete response, sCR), 완전 반응(complete response, CR), 매우 양호한 부분 반응(very good partial response, VGPR), 부분 반응(partial response, PR) 및 최소 반응(minimal response, MR)을 달성하는 대상체를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 구현예들에 따라 대상체에게 투여될 때, 용량 또는 조성물은 투여받은 대상체의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 85% 이상에서 엄격한 완전 반응(sCR), 완전 반응(CR), 매우 양호한 부분 반응(VGPR) 또는 부분 반응(PR)을 달성할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 구현예들에 따라 대상체에게 투여될 때, 용량 또는 조성물은 투여받은 대상체의 적어도 20%, 30%, 40% 50%, 60% 또는 70% 이상에서 엄격한 완전 반응(sCR) 또는 완전 반응(CR)을 달성할 수 있다. 일부 측면에서, 예를 들어, 본원에 제공된 방법에 따른, 치료에 대한 특정 반응은 국제 골수종 위킹 그룹(IMWG) 균일한 반응 기준에 기초하여 평가될 수 있다(문헌 [Kumar 등 (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346] 참조).

[0185] 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따른 투여는 대상체가 다른 요법에 내성이 있더라도 대상체를 효과적으로 치료한다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체 중 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70% 또는 적어도 80%가 완전 관해(CR)를 달성한다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체 중 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90%가 객관적 반응(OR)을 달성한다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체 중 적어도 또는 적어도 약 50%, 대상체 중 적어도 또는 적어도 약 60%, 대상체 중 적어도 또는 적어도 약 70%, 대상체 중 적어도 또는 적어도 약 80% 또는 대상체 중 적어도 또는 적어도 약 90%가 CR을 달성하고/거나 객관적 반응(OR)을 달성한다. 일부 구현예에서, 효과적인 치료에 대해 평가한 기준은 전체 반응률(ORR; 일부 경우에 객관적 반응률로도 알려짐), 완전 반응(CR; 일부 경우에 완전 관해로도 알려짐), 반응 지속 기간(DOR), 무진행 생존(PFS), 및/또는 전체 생존율(OS)을 포함한다.

[0186] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 방법에 따라 치료받은 대상체 중 적어도 40% 또는 적어도 50%가 완전 관해(CR; 일부 경우에 완전 반응으로도 알려짐)를 달성하고, (약) 3개월, 6개월 또는 12개월 초과 또는 13개월 또는 대략 14개월 초과 무진행 생존(PFS) 및/또는 전체 생존율(OS)을 나타내며; 평균적으로, 본 방법에 따라 치료받은 대상체는 (약) 6개월, 12개월 또는 18개월보다 큰 중간 PFS 또는 OS를 나타내고; 및/또는 대상체는 적어도 또는 약 6, 12, 18개월 또는 그 이상 더 긴 개월 수 이후 PFS 또는 OS를 나타낸다.

[0187] 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 치료받은 대상체는 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90%의 CRR을 나타낸다. 일부 구현예에서, 완전 반응률(CRR)이 12개월, 18개월, 24개월, 36개월 또는 그 이상의 최상 전체 반응(BOR)을 가진 대상체의 백분율로 계산된다.

[0188] C. 독성

[0189] 일부 구현예에서, 제공된 방법은, 대체 CAR⁺ T 세포 조성물과 같은 대체 세포 요법의 투여 및/또는 대체 세포의 투약(예를 들어, 정의된 비로 투여되지 않는 세포의 투약)과 비교하여, 낮은 비율 및/또는 낮은 정도의 독성, 독성 결과 또는 증상, 독성-촉진 프로파일, 인자, 또는 특성, 예컨대 사이토카인 방출 증후군(CRS) 또는 신경 독성(NT)과 관련된 또는 이를 나타내는 증상 또는 결과를 초래하는 특징을 포함하도록 고안된다. 사이토카인 방

출 증후군(CRS) 및 신경 독성은 미국 이식 및 세포 치료 학회(ASTCT) 공통 등급제에 따라 등급을 정할 수 있다 (예를 들어, 문헌[Lee 등 Biol Blood Marrow Transplant. 2019 Apr;25(4):625-38] 참조).

[0190] 일부 측면에서, 본원에 제공된 방법의 일부로서 투여된 조작된 T 세포의 더 낮은 분화 상태(예를 들어, 나이트- 유사 또는 중심 기억 표현형, 예컨대 $CCR7^+CD45RA^+$, $CD27^+CCR7^+$, 또는 $CD62L^-CCR7^+$ 로부터 선택된 표현형을 갖는 조작된 T 세포의 더 높은 비율)가 더 분화된 세포보다 더 활성인 것으로 예상되지만, 발견은 세포 요법의 안전 성이 성공적으로 관리될 수 있음을 나타낸다. 일부 측면에서, 예를 들어 세포가 더 분화되는 공정, 예컨대 세포 의 증폭을 포함하는 공정에 의해 생산된 세포 조성물과 비교하여, 더 낮은 용량의 조성물을 제공하는 것은 강력한 효능 및 높은 안전성을 달성한다. 일부 측면에서, 더 낮은 정도의 독성, 예컨대 중증 사이토카인 방출 증후 군(CRS) 또는 중증 신경 독성을 유지하면서 제공된 항-BCMA CAR 조성물의 훨씬 더 높은 용량의 세포가 투여될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 일부 구현예에서, 제공된 방법은, 대체 세포 요법, 예컨대 본원에서 투여되 는 것보다 더 많이 분화된 조작된 T 세포를 가진 대체 CAR^+ T 세포 조성물의 투여를 포함하는 방법과 비교하여, 더 높은 용량의 조작된 T 세포(예를 들어, 50×10^6 개 CAR-발현 T 세포, 예컨대 (약) 100×10^6 개 CAR-발현 T 세포, 160×10^6 개 CAR-발현 T 세포, 또는 200×10^6 개 CAR-발현 T 세포 초과)의 투여를 포함한다.

[0191] 일부 구현예에서, 제공된 방법은, 예컨대 다른 특정 세포 요법과 비교하여, 독성 또는 독성 결과의 높은 비율 또는 가능성을 초래하지 않거나, 또는 독성 또는 독성 결과, 예컨대 신경 독성(NT) 또는 사이토카인 방출 증후 군(CRS)의 비율 또는 가능성을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 본 방법은 중증 NT(sNT), 중증 CRS(sCRS), 대식세 포 활성화 증후군, 중앙 용해 증후군, 3일 이상 동안 적어도 (약) 섭씨 38도 이상의 발열 및 적어도 (약) 20mg/dL의 CRP의 혈장 수준을 초래하지 않거나, 이의 위험을 증가시키지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법 에 따라 치료받은 대상체의 (약) 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% 또는 그 이상이 어느 등급의 CRS든 또는 어느 등급의 신경 독성이든 나타내지 않는다. 일부 구현예에서, 치료받은 대상체의 50% 이내(예를 들어, 치료받은 대 상체의 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 이상)가 2급보다 높은 사이토카인 방출 증후 군(CRS) 및/또는 2급보다 높은 신경 독성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체의 적 어도 50% 이상(예를 들어, 치료받은 대상체의 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 이상) 이 중증 독성 결과(예를 들어, 중증 CRS 또는 중증 신경 독성)를 나타내지 않고, 예컨대 3급 이상의 신경 독성 을 나타내지 않고/거나 중증 CRS를 나타내지 않고, 또는 치료 이후 특정 기간 이내에, 예컨대 세포의 투여 후 1 주, 2주, 또는 1개월 이내에 나타내지 않는다. 일부 구현예에서, 특정 독성을 판정하기 위해 평가하는 매개변수 에는 이상 반응(AE), 용량 제한 독성(DLT), CRS, 및 NT가 포함된다.

[0192] 키메라 항원 수용체를 발현하는 T 세포를 이용한 치료와 같은 입양 T 세포 요법의 투여는 사이토카인 방출 증후 군 및 신경 독성과 같은 독성 효과 또는 결과를 유도할 수 있다. 일부 예에서, 상기와 같은 효과 또는 결과는 관찰된 독성의 기초가 될 수 있는 높은 수준의 순환 사이토카인에 필적한다.

[0193] 일부 측면에서, 독성 결과는 사이토카인 방출 증후군(CRS) 또는 중증 CRS(sCRS)이거나 이와 관련이 있거나 이를 나타낸다. 일부 경우에 입양 T 세포 요법 및 대상체에 다른 생물학적 생성물의 투여 이후에 CRS, 예를 들어, sCRS가 발생할 수 있다. 문헌[Davila 등, Sci Transl Med 6, 224ra25 (2014); Brentjens 등, Sci. Transl. Med. 5, 177ra38 (2013); Grupp 등, N. Engl. J. Med. 368, 1509-1518 (2013); 및 Kochenderfer 등, Blood 119, 2709-2720 (2012); Xu 등, Cancer Letters 343 (2014) 172-78]을 참조한다.

[0194] 통상적으로, CRS는 예를 들어 T 세포, B 세포, NK 세포, 단핵구, 및/또는 대식세포에 의해 매개되는 과도한 전 신 면역 반응에 의해 일어난다. 상기 세포들은 사이토카인 및 케모카인과 같은 많은 양의 염증성 매개인자를 방 출할 수 있다. 사이토카인은 급성 염증 반응을 촉발할 수 있고/거나 내피 기관 손상을 유도할 수 있으며, 이는 미세 혈관 누출, 심부전, 또는 사망을 초래할 수 있다. 중증의 생명을 위협하는 CRS는 폐침윤 및 폐손상, 신부 전, 또는 파종성 혈관내 응고로 이어질 수 있다. 다른 중증의 생명을 위협하는 독성에는 심장 독성, 호흡곤란, 신경학상 독성 및/또는 간부전이 포함될 수 있다. 일부 측면에서, 발열, 특히 높은 발열 ($\geq 38.5^\circ \text{C}$ 또는 $\geq 101.3^\circ \text{F}$)은 CRS 또는 이의 위험과 연관된다. 일부 경우에, CRS의 특징 또는 증상은 감염을 모방한다. 일부 구 현예에서, 감염은 또한 CRS 증상을 나타내는 대상체에서 고려되고, 배양에 의한 모니터링과 경험적 항생제 요법 이 시행될 수 있다. CRS와 연관된 다른 증상은 심장 기능장애, 성인 호흡곤란 증후군, 신부전 및/또는 간부전, 응고장애, 파종성 혈관내 응고, 및 모세혈관 누출 증후군을 포함할 수 있다.

[0195] CRS는 항-염증 요법 예컨대 항-IL-6 요법, 예를 들어, 항-IL-6 항체, 예를 들어, 토실리주맙, 또는 항생제 또는 기술된 바와 같은 다른 제제를 사용하여 치료될 수 있다. CRS의 결과, 징후 및 증상은 알려져 있으며 본원에 기

술된 것들이 포함된다. 일부 구현예에서, 특정 투여량 요법 또는 투여가 주어진 CRS-관련 결과, 징후, 또는 증상에 효과가 있거나 효과가 없는 경우, 특정 결과, 징후, 및 증상 및/또는 이의 수량 또는 정도가 명시될 수 있다.

[0196] CAR 발현 세포를 투여하는 맥락에서, CRS는 통상적으로 CAR을 발현하는 세포의 주입 후 6 내지 20일에 발생한다. 문헌[Xu 등, Cancer Letters 343 (2014) 172-78]을 참조한다. 일부 경우에, CRS는 CAR T 세포 주입 후 6일 미만에 또는 20일 넘어서 발생한다. CRS의 발생률 및 시기는 주입 시점의 기준선 사이토카인 수준 또는 종양 부담과 관련이 있을 수 있다. 보통으로, CRS는 인터페론(IFN)- γ , 종양 괴사 인자(TNF)- α , 및/또는 인터루킨(IL)-2의 혈청 수준 상승을 수반한다. CRS에서 급속하게 유도될 수 있는 다른 사이토카인은 IL-1 β , IL-6, IL-8, 및 IL-10이다.

[0197] CRS와 관련된 예시적인 결과에는 발열, 경직, 오한, 저혈압, 호흡장애, 급성 호흡곤란 증후군(ARDS), 뇌병증, ALT/AST 상승, 신부전, 심장 장애, 저산소증, 신경계 장애, 및 사망이 포함된다. 신경계 합병증에는 섬망, 발작 유사 활동, 착란상태, 단어 찾기 장애, 실어증, 및/또는 둔감해짐 등이 있다. 다른 CRS 관련 결과에는 피로, 구역질, 두통, 발작, 심계항진, 근육통, 발진, 급성 혈관 누출 증후군, 간 기능 장애, 및 신부전이 포함된다. 일부 측면에서, CRS는 혈청 페리틴, d-2량체, 아미노기 전달효소, 젖산 탈수소효소 및 트리글리세리드와 같은 하나 이상의 인자의 증가와 관련되거나 또는 저섬유소원혈증 또는 간비장비대증과 관련된다. CRS와 관련된 다른 예시적인 징후 또는 증상에는 혈류역학적 불안정, 열성 호중구 감소증, 혈청 C 반응성 단백질(CRP)의 증가, 응고 매개변수(예를 들어, 국제 표준화 비율(INR), 프로트롬빈 시간(PTI) 및/또는 피브리노겐)의 변화, 심장 및 기타 기관 기능 및/또는 절대 호중구 수(ANC)의 변화가 포함된다.

[0198] 일부 구현예에서, CRS와 관련된 결과는: 지속적인 발열, 예를 들어, 2일 이상, 예를 들어, 3일 이상, 예를 들어, 4일 이상 또는 적어도 3연속일 이상 동안, 지정된 온도(예를 들어, (약) 섭씨 38도를 넘는 발열; (약) 섭씨 38도를 넘는 발열; 적어도 둘 이상의 사이토카인(예를 들어, 인터페론 감마(IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, 프렉탈카인, 및 IL-5, 및/또는 종양 괴사 인자 알파(TNF α)로 구성된 군 중 적어도 둘 이상)의 치료전 수준, 또는 예를 들어, 상기 사이토카인들 중 적어도 하나 이상의 적어도 (약) 250의 최대 배수 변화와 비교하여, 예를 들어, 적어도 (약) 75의 최대 배수 변화와 같은 사이토카인의 상승; 및/또는 저혈압(예를 들어, 적어도 하나 이상의 정맥내 혈관 수압계에 의해 측정된 바와 같음)과 같은 적어도 하나 이상의 임상적 독성 징후; 저산소증(예를 들어, (약) 90% 미만의 혈장 산소(PO_2) 수준); 및/또는 (정신 상태 변화, 둔감, 및 발작을 포함) 하나 이상의 신경 장애 중 하나 이상을 포함한다. 일부 구현예에서, 신경 독성(NT)은 CRS와 동시에 관찰될 수 있다.

[0199] 예시적인 CRS 관련 결과는 사이토카인과 케모카인, 및 CRS와 관련된 다른 인자를 포함하여 하나 이상의 인자의 증가된 또는 높은 혈청 수준을 포함한다. 예시적인 결과는 상기 인자들 중 하나 이상의 합성 또는 분비의 증가를 더 포함한다. 상기 합성 또는 분비는 T 세포, 또는 선천 면역 세포 또는 B 세포와 같이 T 세포와 상호작용하는 세포에 의한 것일 수 있다.

[0200] 일부 구현예에서, CRS와 관련된 혈청 인자 또는 CRS 관련 결과는 인터페론 감마(IFN- γ), TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2Ra, 과립구 대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 대식세포 염증성 단백질(MIP)-1, 종양 괴사 인자 알파(TNF α), IL-6, 및 IL-10, IL-1 β , IL-8, IL-2, MIP-1, Flt-3L, 프렉탈카인, 및/또는 IL-5를 포함한, 염증성 사이토카인 및/또는 케모카인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 인자 또는 결과는 C 반응성 단백질(CRP)을 포함한다. 초기에 그리고 쉽게 측정 가능한 CRS 위험 인자인 것에 더하여, CRP는 또한 세포 증폭에 대한 표지자이다. 일부 구현예에서, 높은 수준의 CRP, 예컨대 $\geq 15\text{mg/dL}$ 을 가진 것으로 측정된 대상체는 CRS를 가지고 있다. 일부 구현예에서, 높은 수준의 CRP를 가진 것으로 측정된 대상체는 CRS를 가지고 있지 않다. 일부 구현예에서, CRS의 측정은 CRP 및 CRS를 나타내는 다른 인자의 측정을 포함한다.

[0201] 일부 구현예에서, 하나 이상의 염증성 사이토카인 또는 케모카인은 CAR 치료 전, 도중, 또는 이후에 모니터링된다. 일부 측면에서, 하나 이상의 사이토카인 또는 케모카인은 IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2Ra, 과립구 대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 또는 대식세포 염증성 단백질(MIP)을 포함한다. 일부 구현예에서, IFN- γ , TNF- α , 및 IL-6이 모니터링된다.

[0202] 어느 환자가 sCRS 발생 위험 가능성이 더 있는지 예측하기 위해 CRS의 개시와 상관관계가 있는 것으로 보이는 CRS 기준이 개발되었다(문헌[Davilla 등 Science translational medicine. 2014;6(224):224ra25] 참조). 인자들에는 발열, 저산소증, 저혈압, 신경계 변화, 염증성 사이토카인의 혈청 수준 상승, 예컨대 치료로 인해 유도된 상승이 치료전 종양 부담 및 sCRS 증상 모두와 상관관계가 있을 수 있는 일곱 가지 사이토카인(IFN γ , IL-5,

IL-6, IL-10, Flt-3L, 프렉탈카인, 및 GM-CSF) 세트가 포함된다. CRS의 진단 및 관리에 대한 다른 지침은 알려져 있다(예를 들어, 문헌[Lee et al, Blood. 2014;124(2):188-95; Lee 등, Biol Blood Marrow Transplant 2019; 25(4):625-38] 참조). 일부 구현예에서, CRS 등급을 반영하는 기준은 아래 표 2에 세부 사항이 나와 있다.

[표 2]

표 2: 예시적인 CRS 등급 부여 기준	
등급	증상의 설명
1 경미함(Mild)	생명을 위협하는 정도는 아니고, 해열제 및 항구토제와 같은 증상 치료만 필요함(예를 들어, 발열, 구역질, 피로, 두통, 신체 불편감)
2 보통(Moderate)	중도적 개입이 필요하며 이에 대해 반응함: □ 산소 요구량 < 40%, 또는 □ 체액 또는 저용량의 단일 승압약에 빠르게 반응하는 저혈압, 또는 □ 2 급 기관 독성(CTCAE v4.0 에 의함)
3 중증(Severe)	공격적 개입이 필요하며 이에 대해 반응함: □ 산소 요구량 ≥ 40%, 또는 □ 고용량의 단일 승압약(예를 들어, 노르에피네프린 ≥ 20μg/kg/min, 도파민 ≥ 10μg/kg/min, 페닐에프린 ≥ 200μg/kg/min, 또는 에피네프린 ≥ 10μg/kg/min)을 필요로 하는 저혈압, 또는 □ 다수의 승압약(예를 들어, 바소프레신 + 상기 제제들 중 하나, 또는 ≥ 20μg/kg/min 노르에피네프린에 상응하는 조합 승압약들)을 필요로 하는 저혈압, 또는 □ 3 급 기관 독성 또는 4 급 transaminitis(간 효소 수치 상승 현상)(CTCAE v4.0 에 의함)
4 생명 위협	생명 위협: □ 산소호흡기 지원 필요, 또는 □ 4 급 기관 독성(transaminitis 제외)
5 치명적	사망

일부 구현예에서, CRS 등급을 반영하는 기준은 아래 표 3에 세부 사항이 나와 있다.

[0206] [표 3]

표 3. 예시적인 CRS 등급 부여 기준				
증상/징후	1급 (경미함)	2급 (보통)	3급 (중증)	4급 (생명 위협)
CRS 등급은 가장 중증의 증상(발열은 제외)에 의해 정의된다.				
온도 $\geq$ 38.5°C/101.3°F	어느 것이든	어느 것이든	어느 것이든	어느 것이든
수축기 혈압 $\leq$ 90 mm Hg	N/A	유체 또는 단일 저용량 승압약에 반응한다	고용량 또는 다수 승압약 필요함	생명 위협
산소가 SaO ₂ > 90%에 도달 필요함	N/A	FiO ₂ < 40%	FiO ₂ $\geq$ 40%	인공 호흡기 지원 필요함
기관 독성	N/A	2급	3급 또는 transaminitis(간 효소 수치 상승 현상)	4급 (transaminitis 제외)

[0207]

[0208] 일부 구현예에서, 고용량 승압약 요법은 아래 표 4에 기술된 것을 포함한다.

[0209] [표 4]

표 4. 고용량 승압약(모든 용량은 $\geq$ 3시간 필요)	
승압약	용량
노르에피네프린 단일요법	$\geq 20 \mu\text{g}/\text{min}$
도파민 단일요법	$\geq 10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$
페닐에프린 단일요법	$\geq 200 \mu\text{g}/\text{min}$
에피네프린 단일요법	$\geq 10 \mu\text{g}/\text{min}$
바소프레신이 있는 경우	바소프레신 + 노르에피네프린 등가물(NE) $\geq$ 10 $\mu\text{g}/\text{min}^a$
조합 승압약들이 있는 경우(바소프레신 아님)	노르에피네프린 등가물 $\geq 20 \mu\text{g}/\text{min}^a$
^a VASST 시험 승압약 등가물 방정식: 노르에피네프린 등가물 용량 = [노르에피네프린 ($\mu\text{g}/\text{min}$)] + [도파민 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) $\div$ 2] + [에피네프린 ($\mu\text{g}/\text{min}$)] + [페닐에프린 ($\mu\text{g}/\text{min}$) $\div$ 10]	

[0210]

[0211] 일부 구현예에서, 독성 결과는 중증 CRS이다. 일부 구현예에서, 독성 결과는 중증 CRS의 부재(예를 들어, 보통 또는 경미한 CRS)이다. 일부 구현예에서, 세포 요법 또는 이의 세포의 용량의 투여 이후에 대상체가: (1) 적어도 3일 이상 동안 적어도 섭씨 38도 이상의 발열; (2) (a) 투여 직후 수준과 비교하여 다음 일곱 가지 사이토카인 그룹: 인터페론 감마(IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, 프렉탈카인, 및 IL-5 중 적어도 두 개 이상에 대하여 적어도 75 이상의 최대 배수 변화 및/또는 (b) 투여 직후 수준과 비교하여 다음 일곱 가지 사이토카인 그룹: 인터페론 감마(IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, 프렉탈카인, 및 IL-5 중 적어도 한 개 이상에 대하여 적어도 250 이상의 최대 배수 변화; 및 (c) (적어도 하나 이상의 정맥내 혈관 승압제를 필요로 하는) 저혈압 또는 저산소증(PO₂ < 90%)과 같은 독성 또는 (정신 상태 변화, 둔감, 및/또는 발작을 포함한) 하나 이상의 신경 장애 중 적어도 하나 이상의 임상적 징후; 중 하나를 포함하는 사이토카인 상승을 나타내는 경우, 대상체는 세포 요법 또는 이의 세포의 용량의 투여에 반응하여 또는 이에 대해 부차적으로 “중증 CRS” (“sCRS”)가 발생한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 중증 CRS에는 표 2 및 표 3에 제시된 바와 같이 3급 이상의 CRS가 포함된다.

- [0212] 일부 구현예에서, 독성 결과, 예를 들어 CRS-관련 결과의 수준, 예를 들어 CRS의 지표의 혈청 수준을 ELISA에 의해 측정한다. 일부 구현예에서, 발열 및/또는 C 반응성 단백질(CRP)의 수준을 측정할 수 있다. 일부 구현예에서, 발열 및 CRP $\geq 15\text{mg/dL}$ 가 있는 대상체는 중증 CRS를 발생시킬 고위험이 있는 것으로 간주될 수 있다. 일부 구현예에서, CRS 관련 혈청 인자 또는 CRS 관련 결과는 Flt-3L, 프랙탈카인, 과립구 대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 인터루킨-1 베타(IL-1 β), IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, 인터페론 감마(IFN- γ), 대식세포 염증성 단백질(MIP)-1, MIP-1, sIL-2R α , 또는 종양 괴사 인자 알파(TNF α)를 포함한 염증성 사이토카인 및/또는 케모카인의 수준 및/또는 농도의 증가를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 인자 또는 결과는 C 반응성 단백질(CRP)을 포함한다. 초기에 그리고 쉽게 측정 가능한 CRS 위험 인자인 것에 더하여, CRP는 또한 세포 증폭에 대한 표지자이다. 일부 구현예에서, 높은 수준의 CRP, 예컨대 $\geq 15\text{mg/dL}$ 을 가진 것으로 측정된 대상체는 CRS를 가지고 있다. 일부 구현예에서, 높은 수준의 CRP를 가진 것으로 측정된 대상체는 CRS를 가지고 있지 않다. 일부 구현예에서, CRS의 측정은 CRP 및 CRS를 나타내는 다른 인자의 측정을 포함한다.
- [0213] 일부 구현예에서, 중증 CRS 또는 3급 CRS 이상, 예컨대 4급 이상과 관련된 결과는: 지속적인 발열, 예를 들어, 2일 이상, 예를 들어, 3일 이상, 예를 들어, 4일 이상 또는 적어도 3연속일 이상 동안, 지정된 온도, 예를 들어, (약) 섭씨 38도를 넘는 발열; (약) 섭씨 38도 넘는 발열; 적어도 둘 이상의 사이토카인(예를 들어, 인터페론 감마(IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, 프랙탈카인, 및 IL-5, 및/또는 종양 괴사 인자 알파(TNF α)로 구성된 군 중 적어도 둘 이상)의 치료전 수준, 또는 예를 들어, 상기 사이토카인들 중 적어도 하나 이상의 적어도 (약) 250의 최대 배수 변화와 비교하여, 예를 들어, 적어도 (약) 75의 최대 배수 변화와 같은 사이토카인의 상승; 및/또는 저혈압(예를 들어, 적어도 하나 이상의 정맥내 혈관 수압계에 의해 측정된 바와 같음)과 같은 적어도 하나 이상의 임상적 독성 징후; 저산소증(예를 들어, (약) 90% 미만의 혈장 산소(PO_2) 수준); 및/또는 (정신 상태 변화, 둔감, 및 발작을 포함한) 하나 이상의 신경 장애 중 하나 이상을 포함한다. 일부 구현예에서, 중증 CRS에는 집중 치료실(ICU)에서 관리 또는 치료가 필요한 CRS가 포함된다.
- [0214] 일부 구현예에서, 중증 CRS와 같은 CRS는 (1) 지속적인 발열(적어도 3일 이상 동안 적어도 섭씨 38도 이상의 발열) 및 (2) 적어도 (약) 20mg/dL 이상의 CRP의 혈청 수준의 조합을 포괄한다. 일부 구현예에서, CRS는 둘 이상의 승압약의 사용을 필요로 하는 저혈압 또는 기계적 인공호흡이 필요한 호흡부전을 포괄한다. 일부 구현예에서, 승압약의 투여량은 두 번째 또는 후속 투여에서 증가한다.
- [0215] 일부 구현예에서, 중증 CRS 또는 3급 CRS는 알라닌 아미노기 전달효소의 증가, 아스파르트산 아미노기 전달효소의 증가, 오한, 열성 호중구 감소증, 두통, 좌심실 기능 부전, 뇌병증, 뇌수종, 및/또는 떨림을 포괄한다.
- [0216] 다양한 결과를 측정 또는 검출하는 방법은 명시될 수 있다.
- [0217] 일부 측면에서, 독성 결과는 신경 독성이거나 이와 관련된다. 일부 구현예에서, 신경 독성의 임상적 위험과 관련된 증상에는 착란상태, 섬망, 실어증, 표현실어증, 둔감, 간대성 근경련, 무기력, 정신 상태 변화, 경련, 발작 유사 활성화, 발작(선택적으로 뇌전도(EEG)에 의해 확인된 바와 같음), 베타 아밀로이드($\text{A}\beta$)의 수준 상승, 글루타메이트의 수준 상승, 및 산소 라디칼의 수준 상승이 포함된다. 일부 구현예에서, 신경 독성은 예를 들어, 1~5급 척도를 사용하는 중증도에 기초하여 등급이 매겨진다(예를 들어, 문헌[Guido Cavaletti & Paola Marmiroli *Nature Reviews Neurology* 6, 657-666 (December 2010); National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria version 4.03 (NCI-CTCAE v4.03)] 참조).
- [0218] 일부 경우에, 신경계 증상은 sCRS의 가장 초기 증상일 수 있다. 일부 구현예에서, 신경계 증상은 세포 요법 주입 후 5 내지 7일 후에 시작되는 것으로 보인다. 일부 구현예에서, 신경계 변화의 지속 기간은 3 내지 19일 범위일 수 있다. 일부 경우에, sCRS의 다른 증상이 해결된 후에 신경계 변화의 회복이 일어난다. 일부 구현예에서, 신경계 변화의 해결의 시간 또는 정도는 항-IL-6 및/또는 스테로이드(들)를 이용한 치료로 앞당겨지지 않는다.
- [0219] 일부 구현예에서, 세포 요법 또는 이의 세포의 용량의 투여 이후에, 대상체가: 1) 말초 운동 신경의 염증 또는 변성(degeneration)을 포함한, 말초 운동 신경병증의 증상들; 2) 말초 감각 신경의 염증 또는 변성을 포함한 말초 감각 신경병증; 비정상적이고 불쾌한 감각을 초래하는 감각 지각의 왜곡과 같은 감각 장애; 신경 또는 신경 군을 따라 느껴지는 극심하게 고통스러운 감각과 같은 신경통; 및/또는 따끔거림, 무감각, 압박감, 추위 및 자극이 없는 열기의 비정상적인 피부 감각을 초래하는 감각 뉴런의 기능 장애와 같은 감각 이상의 증상들; 중에서 자기 스스로 돌보기(예를 들어, 목욕, 옷 입고 벗기, 음식 먹기, 변기 사용하기, 약 복용)를 제한하는 증상들을 나타내는 경우, 대상체는 세포 요법 또는 이의 세포의 용량의 투여에 반응하여 또는 이에 대해 부차적으로 “중

중 신경 독성”이 발생한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 중증 신경 독성에는 표 5에 제시된 바와 같이 3급 이상의 신경 독성이 포함된다.

[표 5]

표 5: 예시적인 신경 독성 등급 부여 기준	
등급	증상의 설명
1 무증상 또는 경미함	경미한 증상 또는 무증상
2 보통(Moderate)	식사 준비, 식료품이나 의복 구매, 전화기 사용, 돈 관리 등 수단적 일상 생활 활동(ADL)을 제한하는 증상의 존재
3 중증(Severe)	목욕, 옷 입고 벗기, 스스로 음식 먹기, 변기 사용하기, 약 복용하기 등 자기 스스로를 돌보는 ADL을 제한하는 증상의 존재
4 생명 위협	긴급한 개입이 필요한, 생명을 위협하는 증상
5 치명적	사망

일부 구현예에서, 본 방법은 다른 방법과 비교하여 CRS 또는 신경 독성과 관련된 증상을 감소시킨다. 일부 측면에서, 제공된 방법은 다른 방법과 비교하여 중증 CRS 또는 3급 이상의 CRS와 관련된 증상, 결과 또는 인자를 포함하여, CRS와 연관된 증상, 결과 또는 인자를 감소시킨다. 예를 들어, 본 방법에 따라 치료받은 대상체는 예를 들어 표 2 및 표 3에 제시된 임의의 기술된 바와 같은 CRS, 예를 들어, 중증 CRS 또는 3급 이상 CRS의 증상, 결과 또는 인자가 검출 가능하지 않고/거나 감소될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체는 다른 방법으로 치료받은 대상체와 비교하여, 팔다리 쇠약 또는 무감각; 기억, 시력 및/또는 지적 능력의 손실; 통제할 수 없는 집착적이고/거나 강박적인 행동; 망상; 두통; 운동 통제력 상실, 인지 열화, 및 자율 신경계 기능 장애를 포함한 인지 및 행동 문제; 및 성 기능 장애와 같은, 신경 독성의 증상이 감소할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체는 말초 운동 신경병증, 말초 감각 신경병증, 감각 장애, 신경통 또는 감각 이상과 관련된 증상이 감소될 수 있다.

일부 구현예에서, 본 방법은 뉴런의 사멸과 같이 신경계 및/또는 뇌의 손상을 포함한 신경 독성과 관련된 결과를 감소시킨다. 일부 측면에서, 본 방법은 베타 아밀로이드($A\beta$), 글루타메이트, 및 산소 라디칼과 같은 신경 독성과 관련된 인자의 수준을 감소시킨다.

일부 구현예에서, 독성 결과는 용량 제한 독성(DLT)이다. 일부 구현예에서, 독성 결과는 용량 제한 독성이다. 일부 구현예에서, 독성 결과는 용량 제한 독성의 부재이다. 일부 구현예에서, 용량 제한 독성(DLT)은, 예컨대 상기 설명된 바와 같은 그리고 미국 국립 암 연구소(NCI)의 CTCAE(Common Terminology Criteria for Adverse Events) 버전 4.0을 포함하는, 특정 독성을 평가하기 위한 임의의 알려진 또는 출판된 지침에 의해 평가되는 바와 같은 3급 이상 독성으로 정의된다.

일부 구현예에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 T 세포의 용량을 투여하고 관찰되는, 독성, 예를 들어, CRS 또는 신경 독성 또는 중증 CRS 또는 신경 독성, 예를 들어, 3급 이상의 CRS 또는 신경 독성의 낮은 비율, 위험 또는 가능성은 통원환자 기준으로 세포 요법의 투여를 가능하게 한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 세포 요법, 예를 들어, T 세포(예를 들어, CAR^+ T 세포)의 용량의 투여는 통원환자 기준으로 수행되거나 또는 숙박이 필요한 병원 입원 등처럼 대상체가 병원에 입원할 필요가 없다.

일부 측면에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 세포 요법, 예를 들어, T 세포(예

를 들어, CAR⁺ T 세포)의 용량을 투여받은 대상체는, 통원환자 기준으로 치료받은 대상체를 포함하여, 대상체가 독성, 예컨대 신경 독성 또는 CRS의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 세포 용량의 투여 전에 또는 투여와 함께 임의의 독성을 치료하기 위한 개입을 받지 않는다. 독성을 치료, 지연, 약화 또는 개선하기 위한 예시적인 제제가 섹션 II에서 기술된다.

[0227] 일부 구현예에서, 세포 요법, 예를 들어, T 세포(예를 들어, CAR⁺ T 세포)의 용량을 투여받은 대상체가, 통원환자 기준으로 치료받은 대상체를 포함하여, 발열을 나타내면, 대상체는 발열을 낮추기 위한 치료를 제공받거나 해당 치료를 받거나 실시하도록 안내를 받는다. 일부 구현예에서, 대상체의 발열은 특정 임계 온도 또는 수준 이상인 (또는 그렇게 측정된) 대상체의 신체 온도를 특징으로 한다. 일부 측면에서, 임계 온도는 적어도 낮은 등급 이상의 발열, 적어도 중간 정도의 발열, 및/또는 적어도 높은 등급의 발열과 관련된다. 일부 구현예에서, 임계 온도는 특정 온도 또는 범위이다. 예를 들어, 임계 온도는 (약) 또는 적어도 (약) 섭씨 38, 39, 40, 41 또는 42도일 수 있고/거나, (약) 섭씨 38도 내지 (약) 섭씨 39도의 범위, (약) 섭씨 39도 내지 (약) 섭씨 40도의 범위, (약) 섭씨 40도 내지 (약) 섭씨 41도의 범위, 또는 (약) 섭씨 41도 내지 (약) 섭씨 42도의 범위일 수 있다.

[0228] 일부 구현예에서, 발열을 줄이기 위해 설계된 치료는 해열제를 이용한 치료를 포함한다. 해열제에는 NSAID(이부프로펜, 나프록센, 케토프로펜, 및 니메실라이드 등); 아스피린, 살리실산폴린, 살리실산마그네슘, 및 살리실산나트륨과 같은 살리실산염; 파라세타몰; 아세트아미노펜; 메타미졸, 나부메톤, 페낙손(Phenaxone), 안티피린, 해열제(febrifuge)와 같이 해열 효과가 있는 것으로 공지된 다수의 임의의 제제 중 하나와 같이 열을 내리는 임의의 제제, 예를 들어 화합물, 조성물, 또는 성분이 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 해열제는 아세트아미노펜이다. 일부 구현예에서, 아세트아미노펜은 12.5mg/kg의 용량으로 최대 4시간마다 경구로 또는 정맥 내로 투여할 수 있다. 일부 구현예에서, 이것은 이부프로펜 또는 아스피린이거나 이를 포함한다.

[0229] 일부 구현예에서, 열이 지속열인 경우, 대상체는 독성을 치료하기 위해 아래 섹션 II에 기술된 것과 같은 대체 치료를 받는다. 통원환자 기준으로 치료받은 대상체의 경우, 대상체가 지속열을 가졌고/거나 가진 것으로 확인된 경우 대상체는 병원으로 돌아가도록 안내 받는다. 일부 구현예에서, 대상체가 타당한 임계 온도 이상의 발열을 나타내는 경우, 그리고 지정된 치료 이후에, 예컨대 발열을 내리기 위해 설계된 치료, 예컨대 해열제, 예를 들어, NSAID 또는 살리실산염, 예를 들어, 이부프로펜, 아세트아미노펜 또는 아스피린을 이용한 치료 이후에, 대상체의 발열 또는 신체 온도가 내려가지 않거나, 또는 지정된 양 이상(예를 들어, 1° C 이상, 그리고 일반적으로 변동되지 않고, 또는 약 0.5° C, 0.4° C, 0.3° C, 또는 0.2° C 이상) 내려가지 않는 경우, 대상체는 지속열이 있고/거나 가진 것으로 확인되거나 간주된다. 예를 들어, 대상체가 적어도 (약) 섭씨 38 또는 39도 이상의 발열을 나타내거나 나타내는 것으로 확인되고, 아세트아미노펜과 같은 해열제로 치료를 받은 이후에도, 6시간 동안, 8시간 동안, 또는 12시간 동안, 또는 24시간 동안, 열이 (약) 0.5° C, 0.4° C, 0.3° C, 또는 0.2° C 이상, 또는 (약) 1%, 2%, 3%, 4%, 또는 5% 이상 내려가지 않는 경우, 대상체는 지속열을 가진 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 해열제의 투여량은 발열 또는 세균 또는 바이러스 감염, 예를 들어, 국소 또는 전신 감염과 관련된 발열과 같은 특정 유형의 열을 내리기 위해 대상체 등에 일반적으로 효과적인 투여량이다.

[0230] 일부 구현예에서, 대상체가 타당한 임계 온도 이상의 발열을 나타내는 경우, 그리고 대상체의 발열 또는 신체 온도가 약 1° C 이상 변동되지 않고, 그리고 일반적으로 약 0.5° C, 0.4° C, 0.3° C, 또는 0.2° C 이상 변동되지 않는 경우, 대상체는 지속열이 있고/거나 가진 것으로 확인되거나 간주된다. 상기 특정 양 이상의 변동의 부재는 일정 기간 동안(예컨대 24시간, 12시간, 8시간, 6시간, 3시간, 또는 1시간 동안, 발열의 첫 징후부터 또는 표시된 임계값을 넘는 첫 온도부터 측정할 수 있음) 측정된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 대상체가 적어도 (약) 섭씨 38 또는 39도 이상의 발열을 나타내거나 나타내는 것으로 확인되고, 6시간 동안, 8시간 동안, 또는 12시간 동안, 또는 24시간 동안, (약) 0.5° C, 0.4° C, 0.3° C, 또는 0.2° C 이상 변동이 없으면, 대상체는 지속열을 나타내는 것으로 간주되거나 확인된다.

[0231] 일부 구현예에서, 발열은 지속열이고; 일부 측면에서, 독성을 유도할 잠재성이 있는 최초 요법, 예컨대, 세포 요법, 예컨대 T 세포의 용량(예를 들어, CAR⁺ T 세포) 투여 이후에, 대상체가 지속열을 가진 것으로 확인된 시점에, 예컨대 상기 확인한 지 또는 첫 번째로 상기 확인한 지 1, 2, 3, 4, 5, 6시간 이하 시간 내에, 대상체는 치료를 받는다.

[0232] 일부 구현예에서, 예를 들어, 전술한 구현예 중 어느 하나에 따라 측정된 바와 같이, 대상체가 지속열을 나타내는 것으로 확인되거나 확진된(예컨대 처음으로 확인 또는 확진된) 시점에 또는 직후에 독성을 치료하기 위한 하

나 이상의 개입 또는 제제, 예컨대 독성-표적화 요법이 투여된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 독성-표적화 요법은 상기 확진 또는 확인된 지 특정 시간 내에, 예컨대 그로부터 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 6시간, 또는 8시간 내에 투여된다.

[0233] II. 세포 요법 및 세포 조작

[0234] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 세포 요법(예를 들어, T 세포 요법)은 질병 또는 병태와 연관된 항원, 예컨대 r/r/ MM을 인식하고/거나 그에 특이적으로 결합하도록 설계된 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는 조작된 세포를 투여하는 것을 포함한다.

[0235] 제공된 방법 및 용도의 일부 구현예에서, T 세포와 같은 조작된 세포는, 원하는 항원(예를 들어, 종양 항원)에 대한 특이성을 제공하는 리간드-결합 도메인(예를 들어, 항체 또는 항체 단편)을 세포내 신호전달 도메인과 결합하는 하나 이상의 도메인을 함유하는, 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 키메라 수용체를 발현한다.

[0236] 제공된 구현예 중에는 BCMA 및 BCMA-발현 세포 및 질병을 표적화하거나 지시하는 것을 포함하는 조성물, 제조품, 화합물, 방법 및 용도가 있다. BCMA는 특정 질병 및 악성과 같은 병태 상에서 또는 이의 조직 또는 세포상에서, 예를 들어 정상 조직에서 거의 발현되지 않고 예컨대 모든 재발된 또는 새로 진단된 골수종 환자의 예를 들어 악성 형질 세포 상에서 발현되는, 예를 들어, 이중으로 발현되는 것으로 관찰된다. 제공되는 구현예 중에 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함한, BCMA-결합 수용체를 암호화하는 핵산 분자 및 암호화된 CAR과 같은 암호화된 수용체, 및 상기를 포함하는 조성물 및 제조품을 포함하여 상기 질병 및 병태의 치료 및/또는 상기 세포 유형을 표적화하는 데 유용한 접근법이 있다. 상기 수용체는 일반적으로 BCMA에 특이적인 항체(항원 결합 항체 단편, 예컨대 중쇄 가변(V_H) 영역, 단일 도메인 항체 단편 및 scFv를 포함한 단일 사슬 단편 포함)를 포함하는 항원 결합 도메인을 함유할 수 있다. 상기 BCMA 결합 수용체, 예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하고/거나 상기 수용체를 암호화하는 핵산을 함유하는 조작된 세포 또는 재조합 세포와 같은 세포, 및 상기 세포를 함유한 조성물 및 제조품 및 치료 용량이 또한 제공된다. 또한 핵산 서열(들), 예를 들어, 재조합 BCMA 결합 수용체를 암호화하는 핵산 서열의 평가, 최적화, 제조 및 사용 방법이 제공된다. 또한 재조합 BCMA 결합 수용체 및 재조합 BCMA 결합 수용체 암호화 폴리뉴클레오타이드 또는 상기 세포를 함유하는 조성물을 발현 또는 함유하는 세포(예를 들어, 조작된 세포)의 제조 및 (예컨대 BCMA-발현 질병 및 병태의 치료 또는 개선에서) 사용 방법이 제공된다.

[0237] 입양 세포 요법(다른 입양 면역 세포 및 입양 T 세포 요법뿐만 아니라 키메라 항원 수용체(CAR) 및/또는 다른 재조합 항원 수용체와 같은 관심 질병 또는 장애에 특이적인 키메라 수용체를 발현하는 세포의 투여를 수반하는 것을 포함)은 암 및 기타 질병 및 장애의 치료에 효과적일 수 있다. 특정 맥락에서, 입양 세포 요법에 대한 이용 가능한 접근법이 항상 완전히 만족스럽지 않을 수 있다. 일부 측면에서, 투여된 세포가 표적, 예를 들어, BCMA와 같은 표적 항원을 인식 및 이에 결합, 왕래하는 능력은 대상체, 종양 및 이의 환경 내의 적절한 부위로 국소화 및 성공적으로 진입하여 활성화, 증폭되고, 세포독성 사멸 및 사이토카인과 같은 다양한 인자의 분비를 포함하여 다양한 효과기 기능을 발휘하고, 장기를 포함하여 지속되고, 특정 표현형 상태로의 분화, 전환 또는 재프로그래밍에 관여하고, 클리어런스 및 표적 리간드 또는 항원에 대한 재노출 후에 효과적이고 강력한 면역기억반응(recall response)을 제공하고, 탈진, 아네르기, 말단 분화 및/또는 억제 상태로의 분화를 피하거나 감소시킨다.

[0238] 일부 측면에서, 다발성 골수종과 같은 질병 또는 병태의 치료를 위한 이용 가능한 접근법은 복잡하고 항상 완전히 만족스럽지 않을 수 있다. 일부 측면에서, 치료 계획의 선택은 약물 이용 가능성, 선행 요법에 대한 반응, 재발의 공격성, 자가 줄기세포 이식(ASCT)에 대한 적격성, 및 재발이 치료 중 또는 치료 중이 아닐 때 발생했는지 여부를 포함한 다수의 인자에 좌우될 수 있다. 일부 측면에서, MM은 재발 및 관해를 초래하고, 일부 경우에 기존 요법은 치료로부터 재발 및/또는 독성을 유발할 수 있다. 일부 경우에, 다양한 요법 이후 지속성 또는 재발성 질병을 가진 대상체와 같은 특정하게 공격성 질병을 가진 대상체, 높은 종양 부담과 같은 높은 질병 부담을 가진 대상체, 및/또는 형질세포종과 같이 특정하게 공격성 유형의 질병을 가진 대상체는 치료하기가 특히 어려울 수 있고, 이들 대상체에서의 특정 요법에 대한 반응은 불량하거나 짧은 지속 기간을 가질 수 있다. 일부 경우에, 아주 많은 선행 치료를 받은 대상체, 예를 들어, 여러 번의 상이한 선행 요법 후에 재발한 대상체는 낮은 반응을 및/또는 높은 이상 반응 발생률을 나타낼 수 있다. 일부 측면에서, 제공된 구현예들은 제공된 구현예들에 따른 치료가 높은 반응을, 낮은 이상 반응(예를 들어, 독성) 발생률, 연장된 반응, 및 일부 경우에 시간 경과에 따른 반응의 개선을 초래한다는 관찰에 기초한다.

[0239] 일부 맥락에서, 제공된 구현예들은 임상 연구로부터, 본원에 기술된 것과 같은 특정 재조합 수용체를 발현하는 조작된 세포의 투여는 높은 반응을 및 사이토카인 방출 증후군(CRS) 또는 신경증 반응(NE; 또는 신경 독성; NT)

등의 이상 반응의 낮은 비율을 초래한다는 관찰에 기초한다. 일부 측면에서, 제공된 세포, 방법 및 용도는 세포의 투여 이후 높은 반응을 및 낮은 비율의 독성(예를 들어, CRS 또는 NE, 예컨대 3급 이상의 CRS 또는 3급 이상의 신경 독성)과 함께 세포의 연장된 지속성을 나타내는 세포 요법을 초래한다. 일부 측면에서, 이러한 높은 반응을 및 낮은 비율의 독성(예를 들어, 3급 이상의 CRS 또는 3급 이상의 신경 독성)은 세포의 다양하고 상이한 용량들을 사용하여 달성된다. 예를 들면, 상대적으로 낮은 세포 용량에서도, 높은 비율의 객관적 반응 및 높은 수준의 반응(예를 들어, 매우 양호한 부분 반응 VGPR 또는 더 나아짐)이 달성된다. 일부 경우에, 상대적으로 높은 세포 용량이 투여될 수 있으며, 이러한 용량은 높은 비율의 객관적 반응과 낮은 비율의 독성(예를 들어, 3급 이상의 CRS 또는 3급 이상의 신경 독성)을 초래하는 것으로 관찰된다. 일부 경우에, 제공된 구현예들은 또한 투여된 조작된 세포의 증폭 및/또는 지속성의 개선을 가능하게 하고, 일부 경우에 연장된 반응 및/또는 시간 경과에 따라 개선되는 반응을 초래한다. 일부 측면에서, 제공된 구현예들에 따른 공격성 또는 불응성 질병을 가진 대상체(예를 들어, 아주 많은 선행 치료를 받은 대상체, 높은 종양 부담을 가진 대상체 및/또는 공격성 질병 유형을 가진 대상체)의 치료는 안전하고 효과적이며 오래 지속되는 치료를 제공하는 것으로 관찰되었다.

[0240] 일부 맥락에서, 치료에 대한 최적 반응은 CAR과 같은 조작된 재조합 수용체가 세포의 표면 상에 일관되고 안정적으로 발현되고/거나 표적 항원에 결합할 수 있는 능력에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에, 도입된 전이 유전자(예를 들어, 재조합 수용체를 암호화함)로부터 전사된 RNA의 이질성은 일부 경우에 세포 요법에 사용되는 인간 T 세포와 같은 세포에서 발현될 때, 재조합 수용체의 발현 및/또는 활성화에 영향을 미칠 수 있다. 일부 맥락에서, CAR과 같은 재조합 수용체에서 스페이서의 길이 및 유형은 수용체의 발현, 활성화 및/또는 기능에 영향을 미칠 수 있다.

[0241] 또한, 일부 맥락에서, 특정 재조합 수용체는 항원 비의존적 활성화 또는 신호전달(“긴장성 신호전달(tonic signaling)”로도 알려짐)을 나타낼 수 있으며, 이는 예컨대 재조합 수용체를 발현하는 T 세포의 분화 및/또는 탈진의 증가로 인해 바람직하지 않은 효과로 이어질 수 있다. 일부 측면에서, 상기 활성화는 T 세포의 활성화, 효과 또는 효능을 제한할 수 있다. 일부 경우에, 재조합 수용체 발현을 위한 세포의 조작 및 생체의 증폭 동안, 세포는 재조합 수용체를 통한 긴장성 신호전달로 인해 탈진을 나타내는 표현형을 나타낼 수 있다.

[0242] 일부 맥락에서, 재조합 수용체가 특이적으로 결합, 인식 또는 표적화하는 특정 표적 항원의 특성은 수용체의 활성화에 영향을 미칠 수 있다. 일부 맥락에서, B 세포 성숙 항원(BCMA)은 전형적으로 악성 형질 세포 상에서 발현되며 세포 요법을 위한 매력적인 치료 표적이다. 일부 경우에, BCMA는 감마 세크레타제에 의해 절단되어, 용해성 BCMA(soluble BCMA, sBCMA) 또는 BCMA의 “배출된(shed)” 형태를 생성하고, 표적 세포의 표면 상에서 발현되는 BCMA를 감소시킬 수 있다. 일부 경우에, BCMA 결합 분자의 활성화, 예컨대 항-BCMA 키메라 항원 수용체의 활성화는 용해성 BCMA의 존재에 의해 차단되거나 억제될 수 있다. 세포 요법에 대한 최적 반응을 위한, 특히 표적 세포의 표면 상에서 발현되는 BCMA와 같은 BCMA를 특이적으로 결합하고, 인식하고 또는 표적화하는 재조합 수용체를 위한 개선된 전략이 필요하다.

[0243] 제공된 구현예는, 일부 맥락에서, 핵산 서열의 특정 스페이서 및 최적화가 재조합 수용체의 일관되고 강력한 발현을 유도할 수 있다는 관찰에 기초한다. 제공된 BCMA 결합 재조합 수용체는 세포 요법, 특히 BCMA 표적화 세포 요법을 위한 이용 가능한 접근법에 비해 이점을 제공한다. 일부 구현예에서, 제공된 BCMA 결합 재조합 수용체는 용해성 BCMA에 결합하는데 낮은 친화도를 갖는 완전 인간 항원 결합 도메인을 함유한다. 일부 구현예에서, 제공된 BCMA 결합 재조합 수용체는 표적 세포의 표면 상에서 발현되는 BCMA에 대한 결합 강화를 초래하는 변형된 스페이서를 함유한다. 일부 구현예에서, 제공된 BCMA 결합 재조합 수용체는 감소된 항원-비의존적 긴장성 신호전달을 나타내는 것으로 관찰되고, 일부 경우에 이는 항원-비의존적 신호전달로부터 감소된 세포의 탈진, 및 용해성 BCMA에 의한 억제의 결여를 초래할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 BCMA 결합 재조합 수용체는 낮은 밀도 또는 낮은 수준의 BCMA를 발현하는 표적 세포에 대해 활성화 또는 효능을 나타낸다.

[0244] 다양한 측면에서, 제공된 BCMA 결합 재조합 수용체, 상기 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 조작된 세포 및 세포 조성물은 세포 요법, 예를 들어 BCMA 결합 재조합 수용체를 발현하는 조작된 세포를 이용한 세포 요법에 대한 최적의 반응을 감소시킬 수 있는 특정 한계를 극복하거나 중화시킬 수 있는 특정 바람직한 특성을 나타낸다. 일부 측면에서, 본원에 제공된 예시적인 BCMA 결합 재조합 수용체를 발현하는 조작된 세포를 함유하는 조성물은 조작된 세포의 세포 건강의 일관성을 나타내는 것으로 관찰되었고, 개선된 임상 반응과 관련되었다. 일부 측면에서, 본원에 제공된 예시적인 BCMA 결합 재조합 수용체를 발현하는 조작된 세포를 함유하는 조성물은 중심 기억 T 세포(T_{CM}) 표현형과 관련된 면역 세포 아형(예를 들어, CD4+ 또는 CD8+ T 세포 아형)에 대해 농축되는 것으로 관찰되었고, 일부 측면에서, 이는 조작된 세포의 지속성 및 내구성 증가와 관련된다. 일부 맥락에서,

제조합 수용체, 상기 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 조작된 세포 및 세포 구성물을 포함한 제공된 구현에는 BCMA를 표적화하는 이용 가능한 요법에 비해 다양한 이점을 제공하여, 제조합 수용체의 활성 및 BCMA 표적화 세포 요법에 대한 반응을 개선할 수 있다. 또한, 조작된 세포 또는 조작된 세포를 포함하는 조성물의 제공된 방법 및 용도는 대상체 치료에서 다양하고 상이한 용량 수준의 시험시 높은 반응률, 장기 지속적인 반응, 및 낮은 비율의 이상 반응을 초래하는 이점을 제공하는 것으로 관찰되어왔다. 추가로, 조작된 세포 또는 조작된 세포를 포함하는 조성물의 제공된 방법 및 용도는 특정하게 공격성 및/또는 불응성 질병을 가진 대상체, 또는 상기 질병에 대한 여러 번의 상이한 치료에 대해 재발성 및/또는 불응성인 대상체 치료에서 이점을 제공하는 것으로 관찰되어왔다.

[0245] **A. 키메라 항원 수용체**

[0246] 일부 측면에서, BCMA 분자에 결합하거나 이를 인식하는 제조합 수용체 또는 키메라 항원 수용체와 같은 세포 표면 단백질과 같은 BCMA 결합제(binding agent), 제조합 수용체(예를 들어, 키메라 항원 수용체; CAR)와 같은 BCMA 결합 세포 표면 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 및 상기 수용체를 발현하는 세포가 제공된다. BCMA 결합 세포 표면 단백질은 일반적으로 BCMA에, 예컨대 인간 BCMA 단백질과 같은 BCMA 단백질에 특이적으로 결합하는 항체(예를 들어, 항원 결합 항체 단편) 및/또는 기타 결합 펩타이드를 함유한다. 일부 측면에서, 상기 제제(agent)는 BCMA의 세포외 부분에 결합한다. 상기과 같은 폴리뉴클레오타이드를 포함하거나 상기과 같은 수용체를 발현하는 세포(예를 들어, 조작된 세포), 및 상기과 같은 조작된 세포를 포함하는 조성물이 또한 제공된다. 일부 측면에서, 상기과 같은 세포 및 조성물을 사용하는 방법, 및 예컨대 치료 방법에서 이의 용도가 또한 제공된다.

[0247] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 RNA 이질성을 감소시키고/거나, 세포 생성물 로트(lots) 중에서 암호화된 수용체의 표면 발현과 같은 발현을 변형시키기 위해, 예를 들어 증가시키거나 보다 일관되도록 만들기 위해 최적화되거나, 코돈 사용과 같은 최적화를 위해 설계된 특정 특징을 함유한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 세포 표면 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 비밀 또는 숨겨진 스플라이스 부위를 제거하는 것과 같이 기존 폴리뉴클레오타이드에 비해 변형되어 RNA 이질성을 감소시킨다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 세포 표면 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 예컨대 포유동물, 예를 들어 인간 세포, 예컨대 인간 T 세포에서의 발현을 위해 코돈 최적화된다. 일부 측면에서, 변형된 폴리뉴클레오타이드는 세포에서 발현될 때 개선된, 예를 들어, 증가되거나 보다 균일하거나 보다 일관된 수준의 발현, 예를 들어 표면 발현을 초래한다. 상기 폴리뉴클레오타이드는 암호화된 BCMA 결합 세포 표면 단백질을 발현하는 조작된 세포의 생성을 위한 구조체에 이용될 수 있다. 따라서, 본원에 제공된 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된 제조합 수용체를 발현하는 세포, 및 BCMA 발현과 관련된 질병 및 장애(예컨대, 다발성 골수종)의 치료와 같은 임상 세포 요법에서 이의 용도가 또한 제공된다.

[0248] 제공된 폴리뉴클레오타이드 중에는 인간 BCMA 등의 BCMA에 특이적으로 결합하는 것과 같이 특이적으로 인식하는 항원 수용체와 같은 제조합 수용체를 암호화하는 것이 있다. 일부 측면에서, BCMA 결합 폴리펩타이드를 함유하는 것과 같은 암호화된 수용체, 및 조성물 및 제품 및 상기의 용도가 또한 제공된다.

[0249] BCMA 결합 폴리펩타이드 중에는 단일 사슬 항체(예를 들어, 항원 결합 항체 단편)와 같은 항체 또는 이의 부분이 존재한다. 일부 예에서, 제조합 수용체는 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 함유하는 것과 같은 키메라 항원 수용체이다. 임의의 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체 또는 항원 결합 단편은 항원(예를 들어, BCMA)을 특이적으로 인식하고 이 항원에 특이적으로 결합한다. 제공된 폴리뉴클레오타이드는 암호화된 제조합 BCMA 결합 수용체의 발현을 위해 세포에 도입될 수 있는 것과 같은 디옥시리보핵산(DNA) 또는 RNA 구조체와 같은 구조체에 편입될 수 있다.

[0250] 일부 경우에, BCMA 결합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는, 일부 경우에 BCMA 결합 수용체를 암호화하는 핵산 서열의 업스트림에서 암호화되거나 항원 결합 도메인을 암호화하는 핵산 서열의 5' 말단에서 연결되는, 신호 펩타이드를 암호화하는 신호 서열을 함유한다. 일부 경우에, BCMA 결합 수용체, 예를 들어 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 핵산 서열을 함유하는 폴리뉴클레오타이드는 신호 펩타이드를 암호화하는 신호 서열을 함유한다. 일부 측면에서, 신호 서열은 천연 폴리펩타이드로부터 유래된 신호 펩타이드를 암호화할 수 있다. 다른 측면에서, 신호 서열은 이중 또는 비천연 신호 펩타이드를 암호화할 수 있다. 일부 경우에, BCMA 결합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 대리 표지자 또는 다른 표지자와 같은 추가 분자를 암호화하는 핵산 서열을 함유할 수 있거나, 추가 성분, 예컨대 프로모터, 조절 요소 및/또는 다중 시스템 요소를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 수용체를 암호화하는 핵산 서열은 임의의 추가 성분에 작동 가능하게 연

결될 수 있다.

- [0251] 예를 들어 본원에 제공된 방법 및 용도에서 사용된 세포에서 발현된, 제공된 BCMA 결합 수용체는 일반적으로 세포외 결합 분자 및 세포내 신호전달 도메인을 함유한다. 제공된 결합 분자 중에는 단일 사슬 세포 표면 단백질 을 포함하는 항체, 예를 들어 이러한 항체를 함유하는 키메라 항원 수용체와 같은 재조합 수용체를 함유하는 폴리펩타이드가 있다.
- [0252] 제공된 결합 분자(예를 들어, BCMA 결합 분자) 중에는 제공된 항체들 또는 이의 단편(예를 들어, BCMA 결합 단편) 중 하나를 포함하는, 재조합 수용체(예를 들어, 항원 수용체)와 같은 단일 사슬 세포 표면 단백질이 있다. 재조합 수용체는 제공된 항-BCMA 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)을 함유하는 항원 수용체와 같이 BCMA에 특이적으로 결합하거나 이를 특이적으로 인식하는 항원 수용체를 포함한다. 항원 수용체 중에는 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 기능적 비-TCR 항원 수용체가 있다. 또한, 재조합 수용체를 발현하는 세포 및 BCMA 발현과 관련된 질병 및 장애의 치료와 같은 임상 세포 요법에서의 이의 용도가 제공된다.
- [0253] CAR을 포함하는 예시적인 항원 수용체 및 상기 항원 수용체를 조작하고 세포 내로 도입하는 방법은 예를 들어 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013166321, WO2013071154, WO2013123061, 미국 특허 출원 공개 번호 US2002131960, US2013287748, US20130149337, 미국 특허 번호 6,451,995, 7,446,190, 8,252,592, 8,339,645, 8,398,282, 7,446,179, 6,410,319, 7,070,995, 7,265,209, 7,354,762, 7,446,191, 8,324,353, 및 8,479,118 및 유럽 특허 출원 번호 EP2537416]에 기재된 것들 및/또는 문헌[Sadelain 등, Cancer Discov. 2013 April; 3(4): 388-398; Davila 등 (2013) PLoS ONE 8(4): e61338; Turtle 등, Curr. Opin. Immunol., 2012 October; 24(5): 633-39; Wu 등, Cancer, 2012 March 18(2): 160-75]에 기재된 것들을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 수용체는 문헌[미국 특허 번호 7,446,190]에 기재된 바와 같은 CAR 및 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 WO2014055668]에 기재된 것을 포함한다. 예시적인 CAR은 상기 언급된 발명물 중 어느 하나, 예컨대 문헌[WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, US 7,446,190 및 US 8,389,282]에 개시된 바와 같은 CAR을 포함하고, 여기서 항원 결합 부분(예를 들어, scFv)은 본원에 제공된 바와 같은 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로 대체된다.
- [0254] 일부 구현예에서, 제공된 CAR은 서열 번호: 15 내지 20 중에서 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 15 내지 20 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 또는 약 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR은 서열 번호: 19에 제시된 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 19에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 또는 약 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 갖는다.
- [0255] 일부 구현예에서, 제공된 CAR은 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 서열 번호: 9 내지 14 중 어느 하나에 제시된 핵산 서열 또는 서열 번호: 9 내지 14 중 어느 하나에 제시된 핵산 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR은 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 서열 번호: 13 및 14 중 어느 하나에 제시된 핵산 서열 또는 서열 번호: 13 및 14 중 어느 하나에 제시된 핵산 서열에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR은 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 서열 번호: 13에 제시된 핵산 서열 또는 이에 대해 적어도 또는 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR은 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 서열 번호: 13에 제시된 핵산 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된다.
- [0256] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인을 암호화하는 핵산은 (a) 서열 번호: 30, 31, 50, 51, 59, 60, 82, 84, 113, 115 중 어느 하나에 제시된 뉴클레오타이드의 서열; (b) 서열 번호: 30, 31, 50, 51, 59, 60, 82, 84, 113, 115 중 어느 하나에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드의 서열; 또는 (c) (a) 또는 (b)의 퇴화 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인을 암호화하는 핵산은 (a) 서열 번호: 29, 49, 58, 83, 114, 127, 128, 129, 130 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드의 서열; (b) 서열 번호: 29, 49, 58, 83, 114, 126, 127, 128, 129, 130 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드의 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드의 서열; 또는 (c) (a) 또는 (b)의 퇴화 서열을 포함한다.
- [0257] **1. 항원 결합 도메인**

- [0258] 키메라 수용체 중에는 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor, CAR)가 있다. CAR과 같은 키메라 수용체는 일반적으로 제공된 항-BCMA 항체 중 하나를 포함하거나, 이거나, 내에 포함되거나, 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 포함한다. 따라서, 키메라 수용체(예를 들어, CAR)는 전형적으로 하나 이상의 BCMA 결합 분자, 예컨대 하나 이상의 항원 결합 단편, 도메인 또는 부분 또는 하나 이상의 항체 가변 영역 및/또는 항체 분자, 예컨대 본원에 기술된 것을 세포의 부분에 포함한다.
- [0259] 본원에서 용어 “항체(antibody)”는 가장 넓은 의미로 사용되며, 온전한 항체 및 기능성(항원-결합) 항체 단편을 포함하는 다클론 및 단클론 항체를 포함하며, 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 단편 항원 결합(Fab) 단편, F(ab')₂ 단편, Fab' 단편, Fv 단편, 재조합 IgG(rIgG) 단편, 가변 중쇄(V_H) 영역, 단일 사슬 가변 단편(scFv)을 포함한 단일 사슬 항체 단편 및 단일 도메인 항체(예를 들어, sdAb, sdFv, 나노바디(nanobody)) 단편을 포함한다. 상기 용어는 유전자 조작된 및/또는 달리 변형된 형태의 면역글로불린, 예컨대 인트라바디(intrabodies), 펩티바디(peptibodies), 키메라 항체, 완전한 인간 항체, 인간화 항체 및 이중 접합 항체, 다중 특이적(예를 들어, 이중 특이적 또는 삼중 특이적) 항체, 디아바디(diabodies), 트리아바디(triabodies) 및 테트라바디(tetrabodies), 탠덤 디-scFv, 탠덤 트리-scFv를 포괄한다. 달리 언급되지 않는 한, 용어 “항체”는 본원에서 “항원 결합 단편(antigen-binding fragment)”으로도 지칭되는 이의 기능성 항체 단편을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 상기 용어는 또한 IgG 및 이의 하위 클래스, IgM, IgE, IgA 및 IgD를 포함하는 임의의 클래스 또는 하위 클래스의 항체를 포함하는 온전한 또는 전장 항체를 포괄한다.
- [0260] 용어 “초가변 영역(hypervariable region)” 또는 “HVR”과 동의어인 “상보성 결정 영역(complementarity determining region)” 및 “CDR”은 항원 특이성 및/또는 결합 친화도를 부여하는 항체 가변 영역 내의 비인접 아미노산 서열을 지칭하는 것으로 본 기술분야에 알려져 있다. 일반적으로, 각각의 중쇄 가변 영역에는 3개의 CDR(CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)이 있고 각각의 경쇄 가변 영역에는 3개의 CDR(CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3)이 있다. “프레임워크 영역(framework region)” 및 “FR”은 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 비-CDR 부분을 지칭하는 것으로 본 기술분야에 알려져 있다. 일반적으로, 각각의 전장 중쇄 가변 영역에는 4개의 FR(FR-H1, FR-H2, FR-H3 및 FR-H4)이 있고, 각각의 전장 경쇄 가변 영역에는 4개의 FR(FR-L1, FR-L2, FR-L3 및 FR-L4)이 있다.
- [0261] 주어진 CDR 또는 FR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌[Kabat 등 (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (“Kabat” 넘버링 체계); Al-Lazikani 등, (1997) JMB 273,927-948 (“Chothia” 넘버링 체계); MacCallum 등, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), “Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography,” J. Mol. Biol. 262, 732-745.” (“Contact” 넘버링 체계); Lefranc MP 등, “IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,” Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77 (“IMGT” 넘버링 체계); Honegger A and Pluckthun A, “Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool,” J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70, (“Aho” 넘버링 체계); 및 Martin 등, “Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm,” PNAS, 1989, 86(23):9268-9272, (“AbM” 넘버링 체계)]에 기재된 것을 포함한 다수의 잘 알려진 체계 중 어느 하나를 사용하여 용이하게 결정될 수 있다.
- [0262] 주어진 CDR 또는 FR의 경계는 식별에 사용된 체계에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, Kabat 체계는 구조적 정보를 기반으로 하는 반면 Chothia 체계는 구조적 정보를 기반으로 한다. Kabat 및 Chothia 체계 모두에 대한 넘버링은 삽입 문자, 예를 들어 “30a”에 의해 수용되는 삽입(insertion) 및 일부 항체에서 나타나는 결실(deletion)이 있는 가장 일반적인 항체 영역 서열 길이에 기반한다. 이 두 체계는 상이한 위치에 특정 삽입 및 결실(“삽입-결실(indel)”)을 배치하여 차이가 있는 넘버링이 된다. Contact 체계는 복잡한 결정(crystal) 구조의 분석에 기반하며 여러 측면에서 Chothia 넘버링 체계와 유사하다. AbM 체계는 Oxford Molecular's AbM 항체 모델링 소프트웨어에서 사용된 것에 기반한 Kabat와 Chothia 정의 사이의 절충안이다.
- [0263] 하기 표 6은 Kabat, Chothia, AbM 및 Contact 체계에 의해 각각 식별된 바와 같은 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 및 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3의 예시적인 위치 경계를 열거한다. CDR-H1의 경우, Kabat 및 Chothia 넘버링 체계 둘 다를 사용하여 잔기 넘버링이 나열된다. FR들은 예를 들어 CDR-L1 앞에 위치한 FR-L1, CDR-L1과 CDR-L2 사이에 위치한 FR-L2, CDR-L2와 CDR-L3 사이에 위치한 FR-L3과 같은 식으로 CDR들 사이에 위치한다. 도시된 Kabat 넘버링 체계는 H35A 및 H35B에 삽입을 배치하기 때문에, 도시된 Kabat 넘버링 관례를 사용하여 넘버링될 때 Chothia CDR-H1 루프의 끝은 루프의 길이에 따라 H32와 H34 사이에서 변한다는 것에 유의한다.

[0264] [표 6]

표 6. 다양한 넘버링 체계에 따른 CDR의 경계.				
CDR	Kabat	Chothia	AbM	Contact
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (Kabat 넘버링 ¹⁾)	H31--H35B	H26--H32.34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (Chothia 넘버링 ²⁾)	H31--H35	H26--H32	H26--H35	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H50--H58	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

[0265]

[0266] 1 - Kabat 등 (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

[0267] 2 - Al-Lazikani 등, (1997) JMB 273,927-948

[0268] 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 주어진 항체 또는 이의 영역, 예컨대 이의 가변 영역의 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역(complementary determining region)" 또는 개별 지정 CDR(예를 들어, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)은 전술한 체계 중 어느 하나 또는 다른 알려진 체계에 의해 정의된 바와 같은 (또는 특정) 상보성 결정 영역을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 특정 CDR(예를 들어, CDR-H3)이 주어진 V_H 또는 V_L 영역 아미노산 서열에 있는 해당 CDR의 아미노산 서열을 함유한다고 언급될 경우, 상기 CDR은 전술한 체계 중 어느 하나 또는 다른 알려진 체계에 의해 정의된 바와 같은 가변 영역 내의 해당 CDR(예를 들어, CDR-H3)의 서열을 갖는다고 이해된다. 일부 구현예에서, 특정 CDR 서열이 명시된다. 제공된 항체의 예시적인 CDR 서열은 다양한 넘버링 체계를 사용하여 기재되지만, 제공된 항체는 전술한 다른 넘버링 체계 중 어느 하나 또는 당업자에게 알려진 다른 넘버링 체계에 따라 기재된 바와 같은 CDR을 포함할 수 있는 것으로 이해된다.

[0269] 마찬가지로, 달리 명시되지 않는 한, 주어진 항체 또는 이의 영역, 예컨대 이의 가변 영역의 FR 또는 개별 지정 FR(들)(예를 들어, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4)은 알려진 체계 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같은 (또는 특정) 프레임워크 영역을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 일부 경우에, CDR과 같은 특정 CDR, FR 또는 FR들 또는 CDR들의 식별을 위한 체계는 Kabat, Chothia, AbM, IMGT 또는 Contact 방법 또는 다른 알려진 체계에 의해 정의된 바와 같이 명시된다. 다른 경우에, CDR 또는 FR의 특정 아미노산 서열이 제공된다.

[0270] 용어 "가변 영역(variable region)" 또는 "가변 도메인(variable domain)"은 항체가 항원에 결합하는 데 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄(각각 V_H 및 V_L) 가변 영역은 일반적으로 유사한 구조를 가지며, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(framework region, FR) 및 3개의 CDR을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Kindt 등 Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)]을 참조한다. 단일 V_H 또는 V_L 도메인은 항원 결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 또한, 특정 항원에 결합하는 항체는 상보적 V_L 또는 V_H 도메인 라이브러리를 각각 선별하기 위해 항원에 결합하는 항체 유래의 V_H 또는 V_L 도메인을 사용하여 분리될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Portolano 등, J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson 등, Nature 352:624-628 (1991)]을 참조한다.

[0271] 제공된 CAR에 포함된 항체 중에는 항체 단편이 있다. "항체 단편(antibody fragment)" 또는 "항원 결합 단편(antigen-binding fragment)"은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 포함하는 온전한 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 중쇄 가변(V_H) 영역, scFv와 같은 단일 사슬 항체 분자 및 V_H 영역만을 포함하는 단일 도메인 항체; 및 항체 단편들로 형성된 다중 특이적 항체를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR에 있는 항원 결합 도메인은 가변 중쇄(V_H) 및 가변 경쇄(V_L) 영역을 포함하는 항체 단편이거나 이를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 항체는 scFv와 같은 중쇄 가변(V_H) 영역 및/또는 경쇄 가변(V_L) 영역을 포함하는 단일 사슬 항체 단

편이다.

- [0272] 단일 도메인 항체(sdAb)는 항체의 중쇄 가변 영역의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 영역의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 구현예에서, 단일 도메인 항체는 인간 단일 도메인 항체이다.
- [0273] 항체 단편은 온전한 항체의 단백질 가수 분해 소화 및 재조합 숙주 세포에 의한 생산을 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 합성 링커, 예를 들어 펩타이드 링커에 의해 연결된 둘 이상의 항체 영역 또는 사슬을 갖는 것과 같이 자연적으로 발생하지 않고/거나 자연적으로 발생하는 온전한 항체의 효소 소화로 인해 생성되지 않을 수 있는 배열을 포함하는 단편과 같은 재조합으로 생성된 단편이다. 일부 측면에서, 항체 단편은 scFv이다.
- [0274] “인간화(humanized)” 항체는, 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 아미노산 잔기가 비인간 CDR로부터 유래되고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 아미노산 잔기가 인간 FR로부터 유래된, 항체이다. 인간화 항체는 선택적으로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 비인간 항체의 “인간화 형태(humanized form)”는 모체 비인간 항체의 특이성 및 친화도를 유지하면서, 통상적으로 인간에 대한 면역원성을 감소시키기 위해 인간화를 거친 비인간 항체의 변이체를 지칭한다. 일부 구현예에서, 인간화 항체의 일부 FR 잔기는 비인간 항체(예를 들어, CDR 잔기가 유래된 항체)의 해당 잔기로 치환되어 예를 들어, 항체 특이성 또는 친화도가 회복되거나 개선된다.
- [0275] 제공된 CAR에 포함된 항-BCMA 항체 중에는 인간 항체가 있다. “인간 항체(human antibody)”는 인간 또는 인간 세포 또는 인간 항체 라이브러리를 포함하는 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-암호화 서열을 이용하는 비인간 공급원에 의해 생성된 항체의 아미노산 서열에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 항체이다. 상기 용어는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR이 비인간인 것과 같은 비인간 항원 결합 영역을 포함하는 비인간 항체의 인간화된 형태를 배제한다. 상기 용어는 인간 항체의 항원 결합 단편을 포함한다.
- [0276] 인간 항체는 항원 공격(antigenic challenge)에 반응하여 온전한 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 갖는 온전한 항체를 생성하도록 변형된 형질전환동물(transgenic animal)에 면역원을 투여함으로써 제조될 수 있다. 상기 동물은 통상적으로 내인성 면역글로불린 유전자 자리를 대체하거나 또는 동물의 염색체 내로 무작위 통합되거나 염색체 외에 존재하는 인간 면역글로불린 유전자 자리의 전부 또는 일부를 함유한다. 상기 형질전환동물에서, 내인성 면역글로불린 유전자 자리는 일반적으로 불활성화되어 있다. 인간 항체는 또한 인간 레퍼토리로부터 유래된 항체 암호화 서열을 함유하는 파지 디스플레이 및 무세포 라이브러리를 포함한, 인간 항체 라이브러리로부터 유래될 수 있다.
- [0277] 제공된 CAR에 포함된 항체 중에는 단클론 항체 단편을 포함하는 단클론 항체인 것이 있다. 본원에서 사용되는 용어 “단클론 항체(monoclonal antibody)”는 실질적으로 균질한 항체의 집단 내에서 또는 이로부터 수득된 항체를 지칭한다. 즉, 단클론 항체 제제의 생산 동안 발생하거나 자연적으로 발생하는 돌연변이를 함유하는 가능한 변이체(상기 변이체는 일반적으로 미미한 양으로 존재)를 제외하고 이 집단을 포함한 개별 항체는 동일하다. 통상적으로 상이한 에피토프를 겨냥하는 상이한 항체를 포함하는 다클론 항체 제제와는 대조적으로, 단클론 항체 제제의 각 단클론 항체는 항원 상의 단일 에피토프를 겨냥한다. 상기 용어는 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 단클론 항체는 하이브리도마, 재조합 DNA 방법, 파지 디스플레이 및 기타 항체 디스플레이 방법으로부터의 생성을 포함하되 이에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다.
- [0278] 일부 구현예에서, CAR은 항체의 중쇄 가변(V_H) 영역 및/또는 경쇄 가변(V_L) 영역(예를 들어, scFv 항체 단편)과 같은 항체 분자의 BCMA 결합 부분 또는 부분들을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 BCMA 결합 CAR은 제공된 CAR의 BCMA 결합 특성을 부여하는 항-BCMA 항체와 같은 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 함유한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 항원 결합 도메인은 기재된 임의의 항-BCMA 항체이거나 기재된 임의의 항BCMA 항체로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Carpenter 등, *Clin Cancer Res.*, 2013, 19(8):2048-2060, WO 2016090320, WO2016090327, WO2010104949 및 WO2017173256]을 참조한다. 상기 항-BCMA 항체 또는 항원 결합 단편 중 어느 하나가 제공된 CAR에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-BCMA CAR은 문헌[WO 2016090320 또는 WO2016090327]에 기재된 항체로부터 유래된 가변 중쇄(V_H) 및/또는 가변 경쇄(V_L) 영역을 함유하는 scFv인 항원 결합 도메인을 함유한다.
- [0279] 일부 구현예에서, 항체(예를 들어, 항-BCMA 항체) 또는 항원 결합 단편은 기술된 바와 같은 중쇄 및/또는 경쇄 가변(V_H 또는 V_L) 영역 서열 또는 이의 충분한 항원 결합 부분을 함유한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체(예를

들어, 항원 결합 단편)는 기술된 바와 같은 CDR-H1, CDR-H2 및/또는 CDR-H3을 함유하는 V_H 영역 서열 또는 이의 충분한 항원 결합 부분을 함유한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 기술된 바와 같은 CDR-L1, CDR-L2 및/또는 CDR-L3을 함유하는 V_L 영역 서열 또는 이의 충분한 항원 결합 부분을 함유한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 기술된 바와 같은 CDR-H1, CDR-H2 및/또는 CDR-H3을 함유하는 V_H 영역 서열을 함유하고 기술된 바와 같은 CDR-L1, CDR-L2 및/또는 CDR-L3을 함유하는 V_L 영역 서열을 함유한다. 또한 항체 중에는 상기 서열에 대해 적어도 (약) 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 또는 약 99% 동일한 서열을 갖는 것이 있다.

[0280] 일부 구현예에서, 항체는 상기 기재된 V_H 서열(예를 들어, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 및/또는 CDR-H4) 중 어느 하나와 같은 V_H 영역 서열 또는 이의 충분한 항원 결합 부분만을 포함하는 단일 도메인 항체(sdAb)이다.

[0281] 일부 구현예에서, V_H 영역을 포함하는 본원에 제공된 항체(예를 들어, 항-BCMA 항체) 또는 이의 항원 결합 단편은 경쇄 또는 이의 충분한 항원 결합 부분을 추가로 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 V_H 영역 및 V_L 영역, 또는 V_H 영역 및 V_L 영역의 충분한 항원 결합 부분을 함유한다. 상기 구현예에서, V_H 영역 서열은 상기 기술된 임의의 V_H 서열일 수 있다. 상기 일부 구현예에서, 항체는 Fab 또는 scFv와 같은 항원 결합 단편이다. 상기 일부 구현예에서, 항체는 불변 영역도 함유하는 전장 항체이다.

[0282] 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체(예를 들어, 이의 항원 결합 단편)는 서열 번호: 32, 52, 61, 85, 116, 125, 131 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 32, 52, 61, 85, 116, 125, 131 중 어느 하나로부터 선택된 중쇄 가변(V_H) 영역 아미노산에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변(V_H) 영역을 갖거나, 그러한 V_H 서열에 존재하는 CDR-H1, CDR-H2, 및/또는 CDR-H3을 함유한다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체 또는 항체 단편은 문헌[WO 2016/090327, WO 2016/090320, WO 2017/173256, 또는 WO 2019/090003]에 기술된 임의의 항체 또는 항체 결합 단편의 V_H 영역을 갖는다.

[0283] 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체(예를 들어, 이의 항원 결합 단편)는 서열 번호: 33, 53, 62, 88, 119, 127, 132 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 서열 번호: 33, 53, 62, 88, 119, 127, 132 중 어느 하나로부터 선택된 경쇄 가변(V_L) 영역 아미노산에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변(V_L) 영역을 갖거나, 그러한 V_L 서열에 존재하는 CDR-L1, CDR-L2, 및/또는 CDR-L3을 함유한다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체 또는 항체 단편은 문헌[WO 2016/090327, WO 2016/090320, WO 2017/173256, 또는 WO 2019/090003]에 기술된 임의의 항체 또는 항체 결합 단편의 V_L 영역을 갖는다.

[0284] 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체 또는 항체 단편은 문헌[WO 2016/090327, WO 2016/090320, WO 2017/173256, 또는 WO 2019/090003]에 기술된 임의의 항체 또는 항체 결합 단편의 V_H 영역 및 V_L 영역을 갖는다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체 또는 항체 단편은 문헌[WO 2016/090327, WO 2016/090320, WO 2017/173256, 또는 WO 2019/090003]에 기술된 임의의 항체 또는 항체 결합 단편의 scFv이다.

[0285] 일부 구현예에서, BCMA-지시된 CAR은 문헌[WO 2016/090320, WO 2017/173256, 또는 WO 2019/090003] 중 어느 하나에 기술된 바와 같은 항-BCMA CAR이다.

[0286] 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체(예를 들어, 이의 항원 결합 단편)의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 32 및 33의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 32 및 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열; 각각 서열 번호: 52 및 53의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 52 및 53에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열; 각각 서열 번호: 61 및 62의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 61 및 62에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열; 각각 서열 번호: 85 및 88의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 85 및 88에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열; 각각 서열 번호: 116 및 119의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 116 및 119에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열; 각각 서열 번호: 125 및 127의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 125 및 127에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열; 각각 서열 번호: 131 및 132의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 131 및 132에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열;을 포함한다.

- [0287] 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 32 및 33의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 32 및 33에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 52 및 53의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 52 및 53에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 61 및 62의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 61 및 62에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 85 및 88의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 85 및 88에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 116 및 119의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 116 및 119에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 125 및 127의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 125 및 127에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 131 및 132의 아미노산 서열, 또는 각각 서열 번호: 131 및 132에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함한다.
- [0288] 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 V_H 및 V_L 영역을 포함하고, 상기 V_H 영역은 서열 번호: 32, 52, 61, 85, 116, 125, 131 중 어느 하나로부터 선택된 V_H 영역 아미노산 서열 내에 함유된 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-H2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-H3)을 포함하고; 상기 V_L 영역은 서열 번호: 33, 53, 62, 88, 119, 127, 132 중 어느 하나로부터 선택된 V_L 영역 아미노산 서열 내에 함유된 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-L2) 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-L3)을 포함한다.
- [0289] 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 V_H 및 V_L 영역을 포함하고, 상기 V_H 영역은 서열 번호: 32의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 상기 V_L 영역은 서열 번호: 33의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; 상기 V_H 영역은 서열 번호: 52의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 상기 V_L 영역은 서열 번호: 53의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; 상기 V_H 영역은 서열 번호: 61의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 상기 V_L 영역은 서열 번호: 62의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; 상기 V_H 영역은 서열 번호: 85의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 상기 V_L 영역은 서열 번호: 88의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; 상기 V_H 영역은 서열 번호: 116의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 상기 V_L 영역은 서열 번호: 119의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; 상기 V_H 영역은 서열 번호: 125의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 상기 V_L 영역은 서열 번호: 127의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; 상기 V_H 영역은 서열 번호: 131의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 상기 V_L 영역은 서열 번호: 132의 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다.
- [0290] 일부 구현예에서, 제공된 CAR에서 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 32 및 33의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 52 및 53의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 61 및 62의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 85 및 88의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 116 및 119의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 125 및 127의 아미노산 서열을 포함한다.

일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은: 각각 서열 번호: 131 및 132의 아미노산 서열을 포함한다.

[0291] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 V_H 및 V_L 영역은 서열 번호: 116 및 119; 또는 상기 임의의 V_H 및 V_L 에 대해 적어도 90% 서열 동일성, 예컨대 이에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 임의의 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 또는 상기 임의의 V_H 및 V_L 의 V_H 영역 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 및 V_L 영역 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 임의의 항체 또는 이의 항원 결합 단편;에서 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0292] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단일 사슬 가변 단편(scFv) 또는 디아바디 또는 단일 도메인 항체(sdAb)와 같은 단일 사슬 항체 단편이다. 일부 구현예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 V_H 영역만을 포함하는 단일 도메인 항체이다. 일부 구현예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 중쇄 가변(V_H) 영역 및 경쇄 가변(V_L) 영역을 포함하는 scFv이다. 일부 구현예에서, 단일 사슬 항체 단편(예를 들어, scFv)은 중쇄 가변(V_H) 영역 및 경쇄 가변(V_L) 영역과 같은 두 개의 항체 도메인 또는 영역을 연결하는 하나 이상의 링커를 포함한다. 링커는 전형적으로 펩타이드 링커, 예를 들어 가요성 및/또는 용해성 펩타이드 링커이다. 링커 중에는 글리신과 세린이 풍부하고/거나 일부 경우에는 트레오닌이 풍부한 것이 있다. 일부 구현예에서, 링커는 용해도를 향상시킬 수 있는 리신 및/또는 글루타메이트와 같은 하전된 잔기를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 하나 이상의 프롤린을 더 포함한다.

[0293] 따라서, 제공된 항-BCMA 항체는 scFv 및 디아바디와 같은 단일 사슬 항체 단편, 특히 인간 단일 사슬 항체 단편을 포함하고, 이는 전형적으로 V_H 및 V_L 영역과 같은 두 개의 항체 도메인 또는 영역을 연결하는 링커(들)를 포함한다. 링커는 전형적으로 펩타이드 링커, 예를 들어 가요성 및/또는 용해성 펩타이드 링커, 예컨대 글리신과 세린이 풍부한 것이다.

[0294] 일부 측면에서, 글리신 및 세린(및/또는 트레오닌)이 풍부한 링커는 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 상기 아미노산(들)을 포함한다. 일부 구현예에서, 이들은 적어도 (약) 50%, 55%, 60%, 70% 또는 75%의 글리신, 세린 및/또는 트레오닌을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 실질적으로 전부 글리신, 세린 및/또는 트레오닌으로 구성된다. 링커는 일반적으로 약 5 내지 약 50개 아미노산 길이, 전형적으로 (약)10 내지 (약) 30, 예를 들어 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개 아미노산 길이이고, 일부 예에서 10 내지 25개 아미노산 길이이다. 예시적인 링커는 서열 GGGGS(4GS; 서열 번호: 7) 또는 GGGS(3GS; 서열 번호: 2)의 다양한 수의 반복, 예컨대 상기 서열의 2, 3, 4 및 5개 사이의 반복을 갖는 링커를 포함한다. 예시적인 링커는 서열 번호: 1(GGGSGGGSGGGGS)에 제시된 서열을 갖거나 이로 이루어진 것들을 포함한다. 예시적인 링커는 서열 번호: 176(GSTSGSGKPGSGEGSTKG)에 제시된 서열을 갖거나 이로 이루어진 것들을 더 포함한다. 예시적인 링커는 서열 번호: 255(SRGGGSGGGSGGGGSLEMA)에 제시된 서열을 갖거나 이로 이루어진 것들을 더 포함한다.

[0295] 따라서, 일부 구현예에서, 제공된 구현예는 서열 번호: 1에 제시된 링커와 같은 GGGS(서열 번호: 2) 또는 GGGGS(서열 번호: 7)의 반복을 갖는 링커를 포함하여, 글리신/세린이 풍부한 링커와 같은 상기 언급된 링커 중 하나 이상을 포함하는, 단일 사슬 항체 단편(예를 들어, scFv)을 포함한다.

[0296] 일부 구현예에서, 링커는 서열 번호: 1에 제시된 서열을 함유하는 아미노산 서열을 갖는다. 상기 단편(예를 들어, scFv)은 V_H 영역 또는 이의 부분, 이어서 링커, 이어서 V_L 영역 또는 이의 부분을 포함할 수 있다. 상기 단편(예를 들어, scFv)은 V_L 영역 또는 이의 부분, 이어서 링커, 이어서 V_H 영역 또는 이의 부분을 포함할 수 있다.

[0297] 표 7은 제공된 BCMA 결합 수용체, 예컨대 항-BCMA 키메라 항원 수용체(CAR)에 포함될 수 있는 항체 또는 항원 결합 단편과 같은 예시적인 항원 결합 도메인의 서열 번호들을 제공한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 수용체는 하기 표 7의 각 열에 나열된 서열 번호들(Kabat 넘버링에 의함)에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 영역 및 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L 영역을 포함하는 BCMA 결합 항체 또는 이의 단편을 함유한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 수용체는 하기 표 7의 각 열에 나열된 서열 번호들에 제시된 V_H 영역 서열 및 V_L 영역 서열을 포함하는 BCMA 결합 항체 또는 이의 단편, 또는 하기 표 7의 각 열에 나열된 서열

번호들에 제시된 V_H 영역 서열 및 V_L 영역 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 V_H 및 V_L 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체를 함유한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 수용체는 하기 표 7의 각 열에 나열된 서열 번호들에 제시된 V_H 영역 서열 및 V_L 영역 서열을 포함하는 BCMA 결합 항체 또는 이의 단편을 함유한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 수용체는 하기 표 7의 각 열에 나열된 서열 번호들에 제시된 scFv 서열을 포함하는 BCMA 결합 항체 또는 이의 단편, 또는 하기 표 7의 각 열에 나열된 서열 번호들에 제시된 scFv 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 scFv 아미노산 서열을 포함하는 항체를 함유한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 수용체는 서열 번호: 114에 제시된 scFv 서열을 포함하는 BCMA 결합 항체 또는 이의 단편 또는 이에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성을 갖는 scFv 아미노산 서열을 포함하는 항체를 함유한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 수용체는 하기 표 7의 각 열에 나열된 서열 번호들에 제시된 scFv 서열을 포함하는 BCMA 결합 항체 또는 이의 단편을 함유한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합 수용체는 서열 번호: 114에 제시된 scFv 서열을 포함하는 BCMA 결합 항체 또는 이의 단편을 함유한다.

[표 7]

표 7 예시적인 항원 결합 도메인에 대한 서열 식별자(서열 번호)									
항원 결합 도메인	CDR- H1	CDR- H2	CDR- H3	CDR- L1	CDR- L2	CDR- L3	V_H	V_L	scFv
BCMA-23	34	35	36	22	23	24	32	33	29
BCMA-25	37	38	39	40	41	42	52	53	49
BCMA-26	34	35	54	55	56	57	61	62	58
BCMA-52	66	70	72	74	76	77	85	88	83
BCMA-55	97	101	103	105	107	108	116	119	114
BCMA-C1, V_H - V_L							125	127	126
BCMA-C1, V_L - V_H							125	127	128
BCMA-C2, V_H - V_L							131	132	129
BCMA-C2, V_L - V_H							131	132	130

제공된 CAR에서 항체(예를 들어, 항원 결합 단편) 중에는 인간 항체가 있다. 제공된 인간 항-BCMA 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)의 일부 구현예에서, 인간 항체는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 V 분절에 의해 암호화된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 부분, 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 D 분절에 의해 암호화된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 부분, 및/또는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 J 분절에 의해 암호화된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 부분을 포함하는 V_H 영역을 함유하고/거나; 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 카파 또는 람다 사슬 V 분절에 의해 암호화된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 부분 및/또는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 카파 또는 람다 사슬 J 분절에 의해 암호화된 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 부분을 포함하는 V_L 영역을 함유한다. 일부 구현예에서, V_H 영역의 일부는 CDR-H1, CDR-H2 및/또는 CDR-H3에 해당한다. 일부 구현예에서, V_H 영역의 일부는 프레임워크 영역 1(FR1), FR2, FR3 및/또는 FR4에 해당한다. 일부 구현예에서, V_L 영역의 일부는 CDR-L1, CDR-L2 및/또는 CDR-L3에 해당한다. 일부 구현예에서, V_L 영역의 일부는 FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4에 해당한다.

일부 구현예에서, 인간 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 V 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-H1 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 CDR-H1을 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인간 항체는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 V 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-H1 영역과 비교하여 1, 2 또는 3개 이내의 아

미노산이 차이가 있거나 100% 동일한 서열을 갖는 CDR-H1을 함유한다.

[0302] 일부 구현예에서, 인간 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 V 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-H2 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 CDR-H2를 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인간 항체는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 V 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-H2 영역과 비교하여 1, 2 또는 3개 이내의 아미노산이 차이가 있거나 100% 동일한 서열을 갖는 CDR-H2를 함유한다.

[0303] 일부 구현예에서, 인간 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 V 분절, D 분절 및 J 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-H3 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 CDR-H3을 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인간 항체는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 중쇄 V 분절, D 분절 및 J 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-H3 영역과 비교하여 1, 2 또는 3개 이내의 아미노산이 차이가 있거나 100% 동일한 서열을 갖는 CDR-H3을 함유한다.

[0304] 일부 구현예에서, 인간 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 경쇄 V 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-L1 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 CDR-L1을 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인간 항체는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 경쇄 V 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-L1 영역과 비교하여 1, 2 또는 3개 이내의 아미노산이 차이가 있거나 100% 동일한 서열을 갖는 CDR-L1을 함유한다.

[0305] 일부 구현예에서, 인간 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 경쇄 V 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-L2 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 CDR-L2를 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인간 항체는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 경쇄 V 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-L2 영역과 비교하여 1, 2 또는 3개 이내의 아미노산이 차이가 있거나 100% 동일한 서열을 갖는 CDR-L2를 함유한다.

[0306] 일부 구현예에서, 인간 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 경쇄 V 분절 및 J 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-L3 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 CDR-L3을 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인간 항체는 생식세포계열 뉴클레오타이드 인간 경쇄 V 분절 및 J 분절에 의해 암호화된 서열 내의 해당 CDR-L3 영역과 비교하여 1, 2 또는 3개 이내의 아미노산이 차이가 있거나 100% 동일한 서열을 갖는 CDR-L3을 함유한다.

[0307] 일부 구현예에서, 인간 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 인간 생식세포계열 유전자 분절 서열을 함유하는 프레임워크 영역을 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인간 항체는 프레임워크 영역(예를 들어, FR1, FR2, FR3 및 FR4)이 V 분절 및/또는 J 분절과 같은 인간 생식세포계열 항체 분절에 의해 암호화된 프레임워크 영역에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 V_H 영역을 함유한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인간 항체는 프레임워크 영역(예를 들어, FR1, FR2, FR3 및 FR4)이 V 분절 및/또는 J 분절과 같은 인간 생식세포계열 항체 분절에 의해 암호화된 프레임워크 영역에 대해 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 V_L 영역을 함유한다. 예를 들어, 상기 일부 구현예에서, V_H 영역 및/또는 V_L 영역 내에 함유된 프레임워크 영역 서열은 인간 생식세포계열 항체 분절에 의해 암호화된 프레임워크 영역과 비교하여 10개 이내의 아미노산, 예컨대 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이내의 아미노산이 상이하다.

[0308] 일부 구현예에서, 기준 항체는 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 WO 2010/104949]에 기재된 마우스 항-BCMA scFv 일 수 있다.

[0309] 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)는 하나 이상의 불변 영역 도메인과 같은 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 불변 영역은 경쇄 불변 영역 및/또는 중쇄 불변 영역 1(C_H1)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는 Fc 영역과 같은 C_H2 및/또는 C_H3 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, Fc 영역은 IgG1 또는 IgG4와 같은 인간 IgG의 Fc 영역이다.

[0310] 2. 스페이서

[0311] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 방법 및 용도에 사용되는 조작된 세포에 의해 발현되는 것과 같은, 본원에 제공된 항체(예를 들어, 항원 결합 단편)를 포함하는 CAR과 같은 재조합 수용체는 스페이서 또는 스페이서 영역을 더 포함한다. 스페이서는 통상적으로 폴리펩타이드 스페이서이고 일반적으로 CAR 내에서 CAR의 항원 결합 도메인과 막관통 도메인 사이에 위치한다. 일부 측면에서, 스페이서는 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 변이체 또

는 변형된 버전의 적어도 일부, 예컨대 면역글로불린의 힌지 영역, 예컨대 IgG 힌지 영역, 예를 들어, IgG4 또는 IgG4 유래 힌지 영역, 및/또는 C_H1/C_L 및/또는 Fc 영역이거나 이를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 불변 영역 또는 이의 하나 이상의 부분(들)은 인간 IgG4 또는 IgG1 또는 IgG2와 같은 인간 IgG의 것이다. 일반적으로, 불변 영역의 일부와 같은 스페이서는 항원 인식 성분(예를 들어, scFv)과 막관통 도메인 사이에서 스페이서 영역으로 기능한다. 일부 구현예에서, 스페이서의 길이 및/또는 조성은 CAR과 이의 표적 사이의 상호 작용의 특정 특징을 최적화하거나 촉진시키도록 설계되고; 일부 측면에서, 이는 표적 발현 세포 상에서 이의 표적에 대한 CAR의 결합 동안 또는 결합 시 또는 결합 후 CAR의 표적을 발현하는 세포와 CAR-발현 세포 사이의 생물학적 시냅스 거리를 최적화하도록 설계되고; 일부 측면에서, 표적 발현 세포는 BCMA-발현 종양 세포이다. 일부 구현예에서, CAR은 T 세포에 의해 발현되고, 스페이서의 길이는 T 세포 활성화에 적합하거나 CAR T 세포 성능을 최적화하기 위한 길이이다. 일부 구현예에서, 스페이서는 재조합 수용체, 예를 들어 CAR의 리간드-결합 도메인과 막관통 도메인 사이에 위치한 스페이서 영역이다. 일부 구현예에서, 스페이서 영역은 재조합 수용체, 예를 들어 CAR의 리간드-결합 도메인과 막관통 도메인 사이에 위치한 영역이다.

[0312] 일부 구현예에서, 스페이서는 스페이서의 부재 및/또는 길이만 상이한 것과 같은 상이한 스페이서의 존재 하에서와 비교하여 항원 결합 후 세포의 반응성을 증가시키는 길이일 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서는 적어도 100개의 아미노산 길이, 예컨대 적어도 110, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240 또는 250개의 아미노산 길이이다. 일부 예에서, 스페이서는 (약) 12개 아미노산 길이거나 또는 12개 이내의 아미노산 길이이다. 예시적인 스페이서는 적어도 약 10 내지 300개 아미노산, 약 10 내지 200개 아미노산, 약 50 내지 175개 아미노산, 약 50 내지 150개 아미노산, 약 10 내지 125개 아미노산, 약 50 내지 100개 아미노산, 약 100 내지 300개 아미노산, 약 100 내지 250개 아미노산, 약 125 내지 250개 아미노산 또는 약 200 내지 250개의 아미노산을 갖는 것을 포함하고, 열거된 범위 중 임의의 중점들 사이 임의의 정수를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서 또는 스페이서 영역은 적어도 약 12개의 아미노산, 적어도 약 119개 이하의 아미노산, 적어도 약 125개의 아미노산, 적어도 약 200개의 아미노산, 또는 적어도 약 220개의 아미노산, 또는 적어도 약 225개의 아미노산 길이이다.

[0313] 일부 구현예에서, 스페이서는 125 내지 300개 아미노산 길이, 125 내지 250개 아미노산 길이, 125 내지 230개 아미노산 길이, 125 내지 200개 아미노산 길이, 125 내지 180개 아미노산 길이, 125 내지 150개 아미노산 길이, 150 내지 300개 아미노산 길이, 150 내지 250개 아미노산 길이, 150 내지 230개 아미노산 길이, 150 내지 200개 아미노산 길이, 150 내지 180개 아미노산 길이, 180 내지 300개 아미노산 길이, 180 내지 250개 아미노산 길이, 180 내지 230개 아미노산 길이, 180 내지 200개 아미노산 길이, 200 내지 300개 아미노산 길이, 200 내지 250개 아미노산 길이, 200 내지 230개 아미노산 길이, 230 내지 300개 아미노산 길이, 230 내지 250개 아미노산 길이 또는 250 내지 300개 아미노산 길이를 갖는다. 일부 구현예에서, 스페이서는 적어도 또는 적어도 약 또는 (약) 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 또는 229개의 아미노산 길이거나, 또는 전술한 임의의 수치 사이의 길이이다.

[0314] 예시적인 스페이서는 면역글로불린 불변 영역의 부분(들)을 함유하는 것, 예컨대 IgG 힌지 도메인과 같은 Ig 힌지를 함유하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 스페이서는 IgG 힌지를 단독으로, C_H2 및 C_H3 도메인 중 하나 이상에 연결된 IgG 힌지를, 또는 C_H3 도메인에 연결된 IgG 힌지를 포함한다. 일부 구현예에서, IgG 힌지, C_H2 및/또는 C_H3은 IgG4 또는 IgG2로부터 전부 또는 일부 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서는 IgG4, IgG2 및/또는 IgG2 및 IgG4로부터 유래된 힌지, C_H2 및/또는 C_H3 서열(들) 중 하나 이상을 함유하는 키메라 폴리펩타이드일 수 있다. 일부 구현예에서, 힌지 영역은 IgG4 힌지 영역의 전부 또는 일부 및/또는 IgG2 힌지 영역의 전부 또는 일부를 포함하고, 여기서 IgG4 힌지 영역은 선택적으로 인간 IgG4 힌지 영역이고 IgG2 힌지 영역은 선택적으로 인간 IgG2 힌지 영역이며; C_H2 영역은 IgG4 C_H2 영역의 전부 또는 일부 및/또는 IgG2 C_H2 영역의 전부 또는 일부를 포함하고, 여기서 IgG4 C_H2 영역은 선택적으로 인간 IgG4 C_H2 영역이고 IgG2 C_H2 영역은 선택적으로 인간 IgG2 C_H2 영역이며; 및/또는 C_H3 영역은 IgG4 C_H3 영역의 전부 또는 일부 및/또는 IgG2 C_H3 영역의 전부 또는 일부를 포함하고, 여기서 IgG4 C_H3 영역은 선택적으로 인간 IgG4 C_H3 영역이고 IgG2 C_H3 영역은 선택적으로 인간 IgG2 C_H3 영역이다. 일부 구현예에서, 힌지, C_H2 및 C_H3은 IgG4로부터의 힌지 영역, C_H2 및 C_H3의 각각의 전부 또는 일부를 포함한다. 일부 구현예에서, 힌지 영역은 키메라이고 인간 IgG4 및 인간 IgG2로부터의 힌지 영역을 포함하고; C_H2 영역은 키메라이고 인간 IgG4 및 인간 IgG2로부터의 C_H2 영역을 포함하고/거나; C_H3 영역은 키메

라이고 인간 IgG4 및 인간 IgG2로부터의 C_H3 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서는 IgG4/2 키메라 힌지 또는 인간 IgG4 힌지 영역과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 교체를 포함하는 변형된 IgG4 힌지; 인간 IgG2/4 키메라 C_H2 영역; 및 인간 IgG4 C_H3 영역을 포함한다.

[0315] 일부 구현예에서, 스페이서는 IgG4 및/또는 IgG2로부터 전부 또는 일부 유래될 수 있고 하나 이상의 도메인에 하나 이상의 단일 아미노산 돌연변이와 같은 돌연변이를 함유할 수 있다. 일부 예에서, 아미노산 변형은 IgG4의 힌지 영역에서 세린(S)을 프롤린(P)으로 치환한 것이다. 일부 구현예에서, 아미노산 변형은 서열 번호: 173에 제시된 전장 IgG4 Fc 서열의 C_H2 영역에서 177번 위치의 N177Q 돌연변이 또는 서열 번호: 172에 제시된 전장 IgG2 Fc 서열의 C_H2 영역에서 176번 위치의 N176Q와 같이 글리코실화 이질성을 감소시키기 위해 아스파라긴(N)을 글루타민(Q)으로 치환한 것이다. 일부 구현예에서, 스페이서는 IgG4/2 키메라 힌지 또는 변형된 IgG4 힌지; IgG2/4 키메라 C_H2 영역; 및 IgG4 C_H3 영역이거나 이를 포함하고 선택적으로 약 228개 아미노산 길이어거나; 또는 서열 번호: 174에 제시된 스페이서이다. 일부 구현예에서, 스페이서는 코돈 발현 및/또는 숨은 스플라이스 부위와 같은 스플라이스 부위를 제거하기에 최적화된 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된 아미노산 서열 ESKYGPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNGKLPPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK(서열 번호: 174)를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서에 대한 코딩 서열은 서열 번호: 200에 제시된 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서에 대한 코딩 서열은 서열 번호: 236 또는 8에 제시된 핵산 서열을 포함한다.

[0316] 추가로 예시적인 스페이서는 문헌[Hudecek 등 (2013) *Clin. Cancer Res.*, 19:3153, Hudecek 등 (2015) *Cancer Immunol. Res.*, 3(2):125-135 또는 국제 특허 출원 공개 번호 W02014031687]에 기재된 것을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 스페이서의 뉴클레오타이드 서열은 발현 후 RNA 이질성을 감소시키도록 최적화된다. 일부 구현예에서, 스페이서의 뉴클레오타이드 서열은 숨은 스플라이스 부위를 감소시키거나 스플라이스 부위에서 스플라이스 이벤트의 가능성을 감소시키도록 최적화된다.

[0317] 일부 구현예에서, 스페이서는 서열 번호: 237에 제시된 아미노산 서열을 가지며, 서열 번호: 238에 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열 번호: 157에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열 번호: 156에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열 번호: 134에 제시된 아미노산 서열을 가지며, 서열 번호: 135에 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열 번호: 175, 200, 236 또는 8에 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 서열 번호: 175, 200, 236 또는 8에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된, 서열 번호: 174에 제시된 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 스페이서는 선택적으로 코돈 사용을 위해 및/또는 RNA 이질성을 감소시키기 위해 최적화된 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된, 서열 번호: 174에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 갖는다.

[0318] 일부 구현예에서, 스페이서는 서열 번호: 200에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열이거나 이를 포함한다.

[0319] 3. 막관통 도메인 및 세포내 신호전달 성분

[0320] 항원-인식 성분(예를 들어, 항원 결합 도메인)은 일반적으로 CAR의 경우에 TCR 복합체와 같은 항원 수용체 복합체를 통한 자극 및/또는 활성화 및/또는 다른 세포 표면 수용체를 통한 신호를 모방하는 신호전달 성분과 같은 신호전달 성분을 함유하는 하나 이상의 세포내 신호전달 영역에 연결된다. 따라서, 일부 구현예에서, BCMA-결합 분자(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)는 본원에 기재된 것과 같은 하나 이상의 막관통 도메인 및 본원에 기재된 것과 같은 하나 이상의 세포내 성분을 포함하는 세포내 신호전달 영역 또는 도메인에 연결된다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 세포의 도메인에 융합된다. 일 구현예에서, 수용체(예를 들어, CAR)에 있는 도메인 중 하나와 자연적으로 회합하는 막관통 도메인이 사용된다. 일부 경우에, 막관통 도메인은 동일하거나 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 대한 상기 도메인의 결합을 피하도록 아미노산 치환에 의해 변형되거나 선택되어 수용체 복합체의 다른 멤버들과의 상호 작용이 최소화된다.

[0321] 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 천연 또는 합성 공급원으로부터 유래된다. 공급원이 천연인 경우, 일부 측면에서, 도메인은 임의의 막-결합 또는 막관통 단백질로부터 유래된다. 막관통 도메인은 T 세포 수용체의 알파,

베타 또는 제타 사슬, CD3 엡실론, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및/또는 CD154로부터 유래된 것을 포함한다(즉, 적어도 이들의 막관통 도메인(들)을 포함한다). 예를 들어, 막관통 도메인은 서열 번호: 139 또는 서열 번호: 140에 제시된 핵산 서열에 의해 암호화된, 서열 번호: 138에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 도메인일 수 있다. 대안적으로 일부 구현예에서 막관통 도메인은 합성이다. 일부 측면에서, 합성 막관통 도메인은 주로 류신 및 발린 등의 소수성 잔기를 포함한다. 일부 측면에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 트리플렛(triplet)이 합성 막관통 도메인의 각 말단에서 발견될 것이다. 일부 구현예에서, 연결은 링커들, 스페이서들 및/또는 막관통 도메인(들)에 의한 것이다.

[0322] 세포내 신호전달 영역 또는 도메인 중에는 천연 항원 수용체를 통한 신호, 공자극 수용체와 조합으로 상기 수용체를 통한 신호 및/또는 공자극 수용체 단독을 통한 신호를 모방하거나 이와 유사한 것이 있다. 일부 구현예에서, 짧은 올리고- 또는 폴리펩타이드 링커, 예를 들어 글리신 및 세린, 예를 들어 글리신-세린 더블렛(doublet)을 함유하는 것과 같은 2 내지 10개 아미노산 길이의 링커가 CAR의 막관통 도메인과 세포내 신호전달 도메인 사이에 존재하고 연결을 형성한다.

[0323] 수용체, 예를 들어 CAR은 일반적으로 적어도 하나의 세포내 신호전달 성분 또는 성분들을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 수용체는 T 세포 활성화 및 세포독성을 매개하는 TCR CD3 사슬, 예를 들어 CD3 제타 사슬과 같은 TCR 복합체의 세포내 성분 또는 신호전달 도메인을 포함한다. 따라서, 일부 측면에서, BCMA-결합 항체는 하나 이상의 세포 신호전달 모듈에 연결된다. 일부 구현예에서, 세포 신호전달 모듈은 CD3 막관통 도메인, CD3 세포내 신호전달 도메인 및/또는 기타 CD 막관통 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 수용체, 예를 들어 CAR은 Fc 수용체 γ , CD8, CD4, CD25 또는 CD16과 같은 하나 이상의 추가 분자의 일부를 더 포함한다. 예를 들어, 일부 측면에서, CAR은 CD3-제타(CD3- ζ) 또는 Fc 수용체 γ 와 CD8, CD4, CD25 또는 CD16 사이에 키메라 분자를 포함한다.

[0324] 일부 구현예에서, CAR의 결합 시 또는 결합 후, CAR의 세포질 도메인 또는 세포내 신호전달 도메인은 면역 세포, 예를 들어 CAR을 발현하도록 조작된 T 세포의 정상 효과기 기능 또는 반응 중 적어도 하나를 자극 및/또는 활성화시킨다. 예를 들어, 일부 맥락에서, CAR은 T 세포의 기능, 예컨대 세포 용해 활성 또는 T-헬퍼 활성, 예컨대 사이토카인 또는 기타 인자의 분비를 유도한다. 일부 구현예에서, 항원 수용체 성분 또는 공자극 분자의 세포내 신호전달 도메인의 절단 부분은 예를 들어 그것이 효과기 기능 신호를 전달하는 경우 온전한 면역 자극 사슬 대신에 사용된다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인 또는 도메인들은 T 세포 수용체(TCR)의 세포질 서열 및 일부 측면에서 천연 맥락에서 항원 수용체 결합 후에 신호전달을 개시하기 위해 상기 수용체와 협력하여 작용하는 공-수용체 및/또는 상기 분자의 임의의 유도체 또는 변이체 및/또는 동일한 기능적 능력을 갖는 임의의 합성 서열의 세포질 서열을 또한 포함한다.

[0325] 천연 TCR의 맥락에서, 완전한 활성화는 일반적으로 TCR을 통한 신호전달뿐만 아니라 공자극 신호가 필요하다. 따라서, 일부 구현예에서, 완전한 활성화를 촉진하기 위해, 2차 또는 공자극 신호를 생성하기 위한 성분이 CAR에 또한 포함된다. 다른 구현예에서, CAR은 공자극 신호를 생성하기 위한 성분을 포함하지 않는다. 일부 측면에서, 추가의 CAR이 동일한 세포에서 발현되고 2차 또는 공자극 신호를 생성하기 위한 성분을 제공한다.

[0326] 일부 측면에서, T 세포 활성화는 두 종류의 세포질 신호전달 서열, 즉 TCR을 통한 항원-의존적 1차 활성화를 개시하는 서열(1차 세포질 신호전달 서열) 및 항원-비의존적 방식으로 작용하여 2차 또는 공자극 신호를 제공하는 서열(2차 세포질 신호전달 서열)에 의해 매개되는 것으로 설명된다. 일부 측면에서, CAR은 상기 종류의 세포질 신호전달 서열들 중 하나 또는 둘 다를 포함한다.

[0327] 일부 측면에서, CAR은 TCR 복합체의 1차 자극 및/또는 활성화를 조절하는 1차 세포질 신호전달 서열을 포함한다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포질 신호전달 서열은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 알려진 신호전달 모티프를 함유할 수 있다. 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예에는 TCR 또는 CD3 제타, FcR 감마, CD3 감마, CD3 델타 및 CD3 엡실론으로부터 유래된 것이 포함된다. 일부 구현예에서, CAR의 세포내 신호전달 영역 또는 도메인은 CD3 제타로부터 유래된 세포질 신호전달 도메인, 이의 일부 또는 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, CD3 제타는 서열 번호: 144 또는 서열 번호: 145에 제시된 핵산 서열에 의해 암호화된, 서열 번호: 143에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0328] 일부 구현예에서, CAR은 신호전달 도메인(예를 들어, 세포내 또는 세포질 신호전달 도메인) 및/또는 T 세포 공자극 분자와 같은 공자극 분자의 막관통 부분을 포함한다. 예시적인 공자극 분자는 CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 및 ICOS를 포함한다. 예를 들어, 공자극 분자는 4-1BB로부터 유래될 수 있고, 서열 번호: 5 또는 서열 번호: 6에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된, 서열 번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일

부 측면에서, 동일한 CAR은 자극성 또는 활성화 성분(예를 들어, 세포질 신호전달 서열) 및 공자극 성분 둘 다를 포함한다.

- [0329] 일부 구현예에서, 자극성 또는 활성화 성분은 하나의 CAR 내에 포함되는 반면, 공자극 성분은 다른 항원을 인식하는 다른 CAR에 의해 제공된다. 일부 구현예에서, CAR은 활성화 또는 자극성 CAR 및 공자극 CAR을 포함하며, 둘 다 동일한 세포 상에서 발현된다(WO2014/055668 참조). 일부 측면에서, BCMA-표적화 CAR은 자극성 또는 활성화 CAR이고; 다른 측면에서, 이는 공자극 CAR이다. 일부 구현예에서, 세포는 또한 억제성 CAR(iCAR, Fedorov 등, Sci. Transl. Medicine, 5(215) December, 2013 참조), 예컨대 BCMA 외의 항원을 인식하는 CAR을 포함하고, 이로써 BCMA-표적화 CAR을 통해 전달된 자극성 또는 활성화 신호는 이의 리간드에 대한 억제성 CAR의 결합에 의해 감소 또는 억제되어 예를 들어 표적의 효과(off-target effect)를 감소시킨다.
- [0330] 특정 구현예에서, 세포내 신호전달 영역은 CD3(예를 들어, CD3-제타) 세포내 도메인에 연결된 CD28 막관통 및 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3 제타 세포내 도메인에 연결된 키메라 CD28 및 CD137(4-1BB, TNFRSF9) 공자극 도메인을 포함한다.
- [0331] 일부 구현예에서, CAR은 세포질 부분에 하나 이상의, 예를 들어 2개 이상의 공자극 도메인 및 자극성 또는 활성화 도메인, 예를 들어 1차 활성화 도메인을 포함한다. 예시적인 CAR에는 CD3-제타, CD28 및 4-1BB의 세포내 성분들이 포함된다.
- [0332] 일부 구현예에서, 제공된 키메라 항원 수용체는 (a) 본원에 기재된 임의의 항원 결합 도메인과 같은 B 세포 성숙 항원(BCMA)을 특이적으로 인식하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 적어도 125개 아미노산 길이의 스페이서; (c) 막관통 도메인; 및 (d) 세포내 신호전달 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 116 및 119의 아미노산 서열 각각 또는 서열 번호: 116 및 119에 대해 적어도 90%의 동일성을 갖는 아미노산의 서열 각각을 포함하는 V_H 영역 및 V_L 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 116의 V_H 영역 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3이거나 이를 포함하는 V_H 영역 및 서열 번호: 119의 V_L 영역 아미노산 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3이거나 이를 포함하는 V_L 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 97, 101 및 103을 각각 포함하는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 영역; 및 서열 번호: 105, 107 및 108을 각각 포함하는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 96, 100 및 103을 각각 포함하는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 영역; 및 서열 번호: 105, 107 및 108을 각각 포함하는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 95, 99 및 103을 각각 포함하는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 영역; 및 서열 번호: 105, 107 및 108을 각각 포함하는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 94, 98 및 102를 각각 포함하는 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 영역; 및 서열 번호: 104, 106 및 108을 각각 포함하는 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 116의 아미노산 서열이거나 이를 포함하는 V_H 영역 및 서열 번호: 119의 아미노산 서열이거나 이를 포함하는 V_L 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0333] 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 영역은 자극성 세포질 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 자극성 세포질 신호전달 도메인은 T 세포에서 1차 활성화 신호를 유도할 수 있고, T 세포 수용체(TCR) 성분이고/거나 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프(ITAM)를 포함한다. 일부 구현예에서, 자극성 세포질 신호전달 도메인은 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬 또는 이의 기능적 변이체 또는 신호전달 부분의 세포질 신호전달 도메인이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 자극성 세포질 도메인은 인간의 것이거나 인간 단백질로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 자극성 세포질 도메인은 서열 번호: 143에 제시된 서열 또는 서열 번호: 143에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 가지는 아미노산의 서열이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 자극성 세포질 도메인을 암호화하는 핵산은 서열 번호: 144에 제시된 서열이거나 이를 포함하거나 또는 코돈 최적화된 서열 및/또는 이의 퇴화 서열이다. 다른 구현예에서, 자극성 세포질 신호전달 도메인을 암호화하는 핵산은 서열 번호: 145에 제시된 서열이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 영역은 공자극 신호전달 영역을 더 포함한다. 일부 구현

예에서, 공자극 신호전달 영역은 T 세포 공자극 분자의 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 신호전달 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, 공자극 신호전달 영역은 CD28, 4-1BB 또는 ICOS의 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 신호전달 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, 공자극 신호전달 영역은 4-1BB의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 공자극 신호전달 영역은 인간의 것이거나 인간 단백질로부터 유래된다. 다른 구현예에서, 공자극 신호전달 영역은 서열 번호: 4에 제시된 서열 또는 서열 번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 공자극 영역을 암호화하는 핵산은 서열 번호: 5에 제시된 서열이거나 이를 포함하거나 코돈 최적화된 서열 및/또는 이의 퇴화 서열이다. 일부 구현예에서, 공자극 신호전달 영역을 암호화하는 핵산은 서열 번호: 6에 제시된 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 공자극 신호전달 영역은 막관통 도메인과 세포내 신호전달 영역 사이에 존재한다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 CD4, CD28, 또는 CD8로부터 유래된 막관통 도메인이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 CD28로부터 유래된 막관통 도메인이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 인간의 것이거나 인간 단백질로부터 유래된다. 다른 구현예에서, 막관통 도메인은 서열 번호: 138에 제시된 서열 또는 서열 번호: 138에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열이거나 이를 포함한다.

[0334] (1) 인간 B 세포 성숙 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 세포외 항원 결합 도메인—여기서, 상기 세포외 항원 결합 도메인은 (i) 서열 번호: 116의 V_H 영역 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄(V_H); 및 (ii) 서열 번호: 119의 V_L 영역 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄(V_L) 영역을 포함함—; (2) 서열 번호: 174에 제시된 스페이서—또는 상기 스페이서를 암호화하는 핵산은 서열 번호: 200에 제시된 서열이거나 이를 포함함—; (3) 막관통 도메인, 선택적으로 인간 CD28 유래의 막관통 도메인; 및 (4) CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 세포질 신호전달 도메인과 T 세포 공자극 분자의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 영역;을 포함하는 키메라 항원 수용체가 제공된다. 상기 키메라 항원 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 또한 제공된다.

[0335] 일부 구현예에서, V_H 영역은 서열 번호: 116의 V_H 영역 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 서열 번호: 119의 V_L 영역 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하거나; V_H 영역은 각각 서열 번호 97, 101 및 103의 서열을 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 각각 서열 번호 105, 107 및 108의 서열을 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하거나; V_H 영역은 각각 서열 번호 96, 100 및 103의 서열을 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 각각 서열 번호 105, 107 및 108의 서열을 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하거나; V_H 영역은 각각 서열 번호 95, 99 및 103의 서열을 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 각각 서열 번호 105, 107 및 108의 서열을 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하거나; 또는 V_H 영역은 각각 서열 번호 94, 98 및 102의 서열을 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 각각 서열 번호 104, 106 및 108의 서열을 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함한다.

[0336] (1) 인간 B 세포 성숙 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 세포외 항원 결합 도메인—여기서 세포외 항원 결합 도메인은 서열번호: 116의 V_H 영역 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 가변 중쇄(V_H) 영역 및 서열번호: 119의 V_L 영역 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 가변 경쇄(V_L) 영역을 포함하거나; V_H 영역은 서열 번호: 116의 V_H 영역 서열 내에 함유된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 서열 번호: 119의 V_L 영역 서열 내에 함유된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하거나; V_H 영역은 각각 서열 번호: 97, 101 및 103의 서열을 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 각각 서열 번호: 105, 107 및 108의 서열을 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하거나; V_H 영역은 각각 서열 번호: 96, 100 및 103의 서열을 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 각각 서열 번호: 105, 107 및 108의 서열을 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하거나; V_H 영역은 각각 서열 번호: 95, 99 및 103의 서열을 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 각각 서열 번호: 105, 107 및 108의 서열을 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하거나; 또는 V_H 영역은 각각 서열 번호: 94, 98 및

102의 서열을 포함하는 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, V_L 영역은 각각 서열 번호 104, 106 및 108의 서열을 포함하는 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함함; (2) 서열 번호: 174에 제시된 스페이서-또는 상기 스페이서를 암호화하는 핵산은 서열 번호: 200에 제시된 서열이거나 이를 포함함-; (3) 막관통 도메인, 선택적으로 인간 CD28 유래의 막관통 도메인; 및 (4) 인간 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 세포질 신호전달 도메인과 T 세포 공작극 분자의, 선택적으로 인간 4-1BB 또는 인간 CD28 유래의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 영역;을 포함하는 키메라 항원 수용체가 제공된다. 상기 키메라 항원 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 또한 제공된다. 일부 구현예에서, 세포의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 116의 V_H 영역 서열 및 서열 번호: 119의 V_L 영역 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 수용체의 항원 결합 도메인은 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체의 다른 도메인, 영역 또는 성분은 본원에 기재된 임의의 도메인, 영역 또는 성분을 포함한다.

[0337] 4. 대리 표지자

[0338] 일부 구현예에서, CAR 또는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 대리 표지자, 예컨대 세포 표면 표지자(예를 들어, 절단형 세포 표면 표지자)를 포함하고, 이는 수용체를 발현하는 세포의 형질도입 또는 조작을 확인하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 측면에서, 외인성 표지 유전자는 조작된 세포 요법과 관련하여 세포의 검출 또는 선택을 허용하고, 일부 경우에는 또한 ADCC에 의한 세포 자살을 촉진하는 데 이용된다. 예시적인 표지 유전자는 절단형 표피 성장 인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFRt)를 포함하며, 이는 형질도입된 세포에서 관심 전이 유전자(예를 들어, CAR)와 함께 공발현될 수 있다(예를 들어, 문헌[미국 특허 번호 8,802,374] 참조). EGFRt는 항체 세톡시맵(Erbix®)에 의해 인식되는 에피토프를 함유한다. 상기 이유로 Erbix®를 사용하여 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 다른 재조합 수용체와 또한 공-조작된 세포를 포함하여 EGFRt 구조체로 조작된 세포를 식별하거나 선택할 수 있다. 또한, EGFRt는 일반적으로 세포 요법과 관련하여 자살 메커니즘으로 사용된다. 일부 측면에서, EGFRt가 관심 전이 유전자(예를 들어 CAR)를 갖는 세포에서 공발현될 때, ADCC를 통해 전달된 유전자-변형 세포를 감소시키거나 고갈시키기 위해 세톡시맵 단클론 항체에 의해 표적화될 수 있다(문헌[미국 특허 번호 8,802,374 및 Liu 등, Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434] 참조). 중요하게는, tEGFR을 사용한 자살 사멸 접근법은 항체 에피토프의 이용 가능성을 필요로 한다. 상기 표지 유전자의 다른 예는 전립선-특이적 막 항원(prostate-specific membrane antigen, PSMA) 또는 이의 변형 형태이다. PSMA 또는 이의 변형 형태는 PSMA-표적화 분자, 예컨대 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 의해 결합 또는 인식되는 아미노산의 서열을 포함할 수 있다. PSMA-표적화 분자는 또한 본원에 제공된 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 다른 재조합 수용체와 함께 공-조작된 세포를 포함하여 PSMA 또는 변형된 구조체로 조작된 세포를 식별하거나 선택하는데 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 표지자는 CD34, 신경 성장 인자 수용체(nerve growth factor receptor, NGFR), 표피 성장 인자 수용체(예를 들어, EGFR) 또는 PSMA의 전부 또는 일부(예를 들어, 절단 형태)를 포함한다.

[0339] 예시적인 대리 표지자는, 비기능적이며 신호 또는 일반적으로 전장 형태의 세포 표면 폴리펩타이드에 의해 전달되는 신호를 전달할 수 없거나 전달하지 않고/거나 내재화될 수 없거나 내재화되지 않는 절단 형태와 같은, 세포 표면 폴리펩타이드의 절단 형태를 포함할 수 있다. 예시적인 절단형 세포 표면 폴리펩타이드는 절단된 인간 표피 성장 인자 수용체 2(tHER2), 절단된 표피 성장 인자 수용체(tEGFR, 서열 번호: 246에 제시된 예시적인 tEGFR 서열) 또는 전립선-특이적 막 항원(PSMA) 또는 이의 변형된 형태와 같은 성장 인자 또는 다른 수용체의 절단 형태를 포함한다. tEGFR은 항체 세톡시맵(Erbix®) 또는 다른 치료용 항-EGFR 항체 또는 결합 분자에 의해 인식되는 에피토프를 함유할 수 있으며, 이는 tEGFR 구조체 및 암호화된 외인성 단백질로 조작된 세포를 식별 또는 선택하기 위해 및/또는 암호화된 외인성 단백질을 발현하는 세포를 제거 또는 분리하기 위해 사용될 수 있다. 문헌[미국 특허 번호 8,802,374 및 Liu 등, Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434]을 참조한다. 일부 측면에서, 표지자(예를 들어, 대리 표지자)에는 CD34의 전부 또는 일부(예를 들어, 절단 형태), NGFR, CD19 또는 절단된 CD19(예를 들어, 절단된 비-인간 CD19), 또는 표피 성장 인자 수용체(예를 들어, tEGFR)가 포함된다. 일부 구현예에서, 표지자는 녹색 형광 단백질(green fluorescent protein, GFP), 강화된 녹색 형광 단백질(EGFP), 예컨대 슈퍼-폴드 GFP(super-fold GFP, sfGFP), 적색 형광 단백질(red fluorescent protein, RFP), 예컨대 tdTomato, mCherry, mStrawberry, AsRed2, DsRed 또는 DsRed2, 시안 형광 단백질(cyan fluorescent protein, CFP), 청록 형광 단백질(blue green fluorescent protein, BFP), 강화된 청색 형광 단백질(EBFP) 및 노랑 형광 단백질(YFP) 및 형광 단백질의 중 변이체, 단량체 변이체, 및 코돈-최적화된 및/또는 강화된 변이체를 포함한 상기들의 변이체와 같은 형광 단백질이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 표지자는 루시페라아제, 대장균(*E. Coli*)의 lacZ 유전자, 알칼리 포스파타아제, 분비 배아 알칼리 포스파타아제(SEAP),

클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라아제(CAT)와 같은 효소이거나 이를 포함한다. 예시적인 발광 리포터 유전자에는 루시페라아제(luc), β -갈락토시다아제, 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라아제(CAT), β -글루쿠로니다아제(GUS) 또는 이들의 변이체가 포함된다.

[0340] 일부 구현예에서, 표지자는 선택 표지자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 외인성 제제 또는 약물에 대한 내성을 부여하는 폴리펩타이드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 항생제 내성 유전자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 포유동물 세포에 대해 항생제 내성을 부여하는 항생제 내성 유전자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 퓨로마이신 내성 유전자, 하이그로마이신 내성 유전자, 블라스티사이딘 내성 유전자, 네오마이신 내성 유전자, 게네티신 내성 유전자 또는 제오신 내성 유전자 또는 이들의 변형된 형태이거나 이를 포함한다.

[0341] 일부 구현예에서, 표지자를 암호화하는 핵산은 절단 가능한 링커 서열(예를 들어, T2A)과 같은 링커 서열을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 작동 가능하게 연결된다. 문헌[국제 특허 출원 번호 W02014031687]을 참조한다. 일부 구현예에서, T2A 리보솜 스위치에 의해 분리된 CAR 및 대리 표지자를 암호화하는 구조체의 도입으로 같은 구조체로부터 2개의 단백질을 발현시킬 수 있어서, 대리 표지자는 상기 구조체를 발현하는 세포를 검출하기 위한 표지자로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 대리 표지자 및 선택적으로 링커 서열은 문헌[국제 공개 번호 W02014031687]에 개시된 바와 같은 임의의 것일 수 있다. 예를 들어, 표지자는 선택적으로 링커 서열, 예컨대 2A 절단 가능한 링커 서열(예를 들어, 본원의 다른 곳에 기재된 T2A, P2A, E2A 또는 F2A 절단 가능한 링커)에 연결된, 절단형 EGFR(tEGFR) 또는 PSMA일 수 있다. 절단형 EGFR 대리 표지자에 대한 예시적인 폴리펩타이드는 서열 번호: 246에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열 번호: 246에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서는 글리신-세린 풍부 서열 또는 알려진 가요성 링커(flexible linker)와 같은 다른 가요성 링커이거나 이를 포함한다.

[0342] 일부 구현예에서, 표지자는 T 세포 상에서 자연적으로 발견되지 않거나 또는 T 세포 표면에서 자연적으로 발견되지 않는 분자(예를 들어, 세포 표면 단백질) 또는 이의 부분이다.

[0343] 일부 구현예에서, 상기 분자는 비자기(non-self) 분자, 예를 들어 비자기 단백질, 즉 세포가 입양으로 전달될 숙주의 면역 시스템에 의해 “자기(self)”로 인식되지 않는 분자이다.

[0344] 일부 구현예에서, 표지자는 치료 기능을 하지 않고/거나 유전자 조작을 위한, 예를 들어 성공적으로 조작된 세포를 선택하기 위한 표지자로서 사용되는 것 외에 다른 효과를 생성하지 않는다. 다른 구현예에서, 표지자는 치료적 분자 또는 달리 일부 원하는 효과를 나타내는 분자, 예컨대 생체 내에서 세포가 조우하게 될 리간드, 예컨대 입양 전달 및 리간드와의 조우 이후 세포의 반응을 강화하고/거나 약화시키는 공자극 또는 면역 관문 분자일 수 있다.

[0345] 일부 경우에, CAR은 제1, 제2 및/또는 제3 세대 CAR로 지칭된다. 일부 측면에서, 제1 세대 CAR은 항원 결합 시 또는 이에 대한 반응으로 CD3-사슬 유도 신호만을 제공하는 것이고; 일부 측면에서, 제2 세대 CAR은 상기 신호 및 공자극 신호, 예컨대 CD28 또는 CD137과 같은 공자극 수용체 유래 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것을 제공하는 것이고; 일부 측면에서, 제3 세대 CAR은 상이한 공자극 수용체의 다수의 공자극 도메인을 포함하는 것이다.

[0346] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체는 본원에 기술된 항체 또는 단편을 함유하는 세포의 부분을 포함한다. 일부 측면에서, 키메라 항원 수용체는 본원에 기술된 항체 또는 단편을 함유하는 세포의 부분 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 단편은 V_H 영역만을 포함하는 scFv 또는 단일 도메인 항체를 포함하고 세포내 신호전달 도메인은 ITAM을 함유한다. 일부 측면에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 제타 사슬의 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체는 세포의 도메인과 세포내 신호전달 도메인을 연결하는 막관통 도메인을 포함한다. 일부 측면에서, 막관통 도메인은 CD28의 막관통 부분을 함유한다. 세포의 도메인과 막관통은 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포의 도메인과 막관통은 본원에 기술된 임의의 것과 같은 스페이서에 의해 연결된다. 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체는 공자극 분자(예를 들어, T 세포 공자극 분자)의 세포내 도메인을, 예컨대 막관통 도메인과 세포내 신호전달 도메인 사이에 함유한다. 일부 측면에서, T 세포 공자극 분자는 CD28 또는 4-1BB이다.

[0347] 일부 구현예에서, 수용체(예를 들어, CAR)의 막관통 도메인은 인간 CD28의 막관통 도메인 또는 이의 변이체, 예를 들어, 인간 CD28의 27-아미노산 막관통 도메인(수탁 번호: P10747.1)이다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전

달 도메인은 인간 CD28의 세포내 공자극 신호전달 도메인 또는 이의 기능적 변이체, 예컨대 이의 41-아미노산 도메인 및/또는 천연 CD28 단백질의 186-187 위치에서 LL의 GG로의 치환을 갖는 상기 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 도메인은 4-1BB의 세포내 공자극 신호전달 도메인 또는 이의 기능적 변이체, 예컨대 인간 4-1BB의 42-아미노산 세포질 도메인(수탁 번호: Q07011.1)을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 인간 CD3 제타 자극성 신호전달 도메인 또는 이의 기능적 변이체, 예컨대 인간 CD3ζ의 동형 단백질 3의 112 AA 세포질 도메인(수탁 번호: P20963.2) 또는 문헌[미국 특허 번호: 7,446,190]에 기재된 바와 같은 CD3 제타 신호전달 도메인을 포함한다.

[0348] 예를 들어, 일부 구현예에서, CAR은 본원에 기재된 바와 같은 sdAb 및 scFv를 포함하는 임의의 인간 BCMA 항체와 같은 BCMA 항체 또는 단편, 임의의 Ig-헐지 함유 스페이서와 같은 스페이서, CD28 막관통 도메인, CD28 세포내 신호전달 도메인, 및 CD3 제타 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, CAR은 본원에 기재된 sdAb 및 scFv를 포함하는 임의의 인간 BCMA 항체와 같은 BCMA 항체 또는 단편, 임의의 Ig-헐지 함유 스페이서와 같은 스페이서, CD28 막관통 도메인, 4-1BB 세포내 신호전달 도메인, 및 CD3 제타 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CAR 구조체는 T2A 리보솜 스킵 요소 및/또는 tEGFR 서열을, 예를 들어, CAR의 다운스트림에 더 포함한다.

[0349] 특정 구현예에서, 다중 특이성 결합 분자, 예를 들어 다중 특이성 키메라 수용체, 예컨대 다중 특이성 CAR은, 예를 들어 이중 특이성 항체, 다중 특이성 단일 사슬 항체, 예를 들어 디아바디(diabodies), 트리아바디(triabodies) 및 테트라바디(tetrabodies), 탠덤(tandem) di-scFv 및 탠덤 tri-scFv를 포함한 임의의 다중 특이성 항체를 함유할 수 있다.

[0350] B. 유전자 조작을 위한 핵산, 벡터 및 방법

[0351] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, T 세포)는 재조합 수용체를 발현하도록 유전자 조작된다. 일부 구현예에서, 조작은 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 도입함으로써 수행된다. 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 및 상기 핵산 및/또는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 벡터 또는 구조체가 또한 제공된다.

[0352] 일부 경우에, 재조합 수용체를 암호화하는 핵산 서열은 신호 펩타이드를 암호화하는 신호 서열을 함유한다. 일부 측면에서, 신호 서열은 천연 폴리펩타이드로부터 유래된 신호 펩타이드를 암호화할 수 있다. 다른 측면에서, 신호 서열은 서열 번호: 24에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되고 서열 번호: 25에 제시된 GMCSFR 알파 사슬의 예시적인 신호 펩타이드와 같은 이중 또는 비천연 신호 펩타이드를 암호화할 수 있다. 일부 경우에, 재조합 수용체, 예를 들어 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 핵산 서열은 신호 펩타이드를 암호화하는 신호 서열을 함유한다. 신호 펩타이드의 비제한적인 예시적인 예에는 예를 들어, 서열 번호: 24에 제시된 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되고 서열 번호: 25에 제시된 GMCSFR 알파 사슬 신호 펩타이드 또는 서열 번호: 26에 제시된 CD8 알파 신호 펩타이드가 포함된다.

[0353] 일부 구현예에서, 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 재조합 수용체의 발현을 제어하도록 작동 가능하게 연결된 적어도 하나의 프로모터를 함유한다. 일부 예에서, 폴리뉴클레오타이드는 재조합 수용체의 발현을 제어하도록 작동 가능하게 연결된 2개, 3개 또는 그 이상의 프로모터를 함유한다.

[0354] 핵산 분자가 두 개 이상의 상이한 폴리펩타이드 사슬, 예를 들어, 재조합 수용체 및 표지자를 암호화하는 특정 경우에, 각각의 폴리펩타이드 사슬은 별도의 핵산 분자에 의해 암호화될 수 있다. 예를 들어, 두 개의 별도의 핵산이 제공되고, 각각은 세포 내 발현을 위해 세포 내로 개별적으로 전달되거나 도입될 수 있다. 일부 구현예에서, 재조합 수용체를 암호화하는 핵산 및 표지자를 암호화하는 핵산은 동일한 프로모터에 작동 가능하게 연결되고 선택적으로 내부 리보솜 유입점(internal ribosome entry site, IRES) 또는 자가 절단 펩타이드 또는 선택적으로 T2A, P2A, E2A 또는 F2A인 리보솜 스킵핑을 야기하는 펩타이드를 암호화하는 핵산에 의해 분리되어 있다. 일부 구현예에서, 표지자를 암호화하는 핵산 및 재조합 수용체를 암호화하는 핵산은 두 개의 상이한 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 표지자를 암호화하는 핵산 및 재조합 수용체를 암호화하는 핵산은 세포의 계층 내의 상이한 위치에 존재하거나 삽입된다. 일부 구현예에서, 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 예컨대 레트로바이러스 형질도입, 형질주입 또는 형질전환에 의해, 배양된 세포를 함유하는 조성물 내로 도입된다.

[0355] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드가 제1 및 제2 핵산 서열을 함유하는 것과 같이, 각각의 상이한 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 코딩 서열은 동일하거나 상이할 수 있는 프로모터에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 둘 이상의 상이한 폴리펩타이드 사슬의 발현을 구동하는 프로모터를 함유할 수 있

다. 일부 구현예에서, 상기 핵산 분자는 다중 시스트론(이중 시스트론 또는 삼중 시스트론, 예를 들어, 문헌[미국 특허 번호 6,060,273] 참조)일 수 있다. 일부 구현예에서, 전사 단위는 단일 프로모터로부터의 메시지에 의해 (예를 들어, 표지자를 암호화하고 재조합 수용체를 암호화하는) 유전자 생성물의 공발현을 허용하는 IRES(내부 리보솜 유입점)를 함유하는 이중 시스트론 단위로서 조작될 수 있다. 대안적으로, 일부 경우에, 단일 프로모터는 단일 개방형 해독틀(open reading frame, ORF)에 자가-절단 펩타이드(예를 들어, 2A 서열) 또는 프로테아제 인식 부위(예를 들어, 퓨린)를 암호화하는 서열에 의해 서로 분리된, (예를 들어, 표지자를 암호화하고 재조합 수용체를 암호화하는) 두 개 또는 세 개의 유전자를 함유하는 RNA의 발현을 지시할 수 있다. 따라서, ORF는 번역 동안(2A의 경우) 또는 번역 후에 개별 단백질로 가공되는 단일 폴리펩타이드를 암호화한다. 일부 경우에, T2A와 같은 펩타이드는 리보솜이 2A 요소의 C-말단에서 펩타이드 결합의 합성을 건너뛰도록(리보솜 스킵핑) 유발할 수 있으며, 이는 2A 서열의 말단과 다음(next) 펩타이드 다운스트림 사이의 분리로 이어진다(예를 들어, 문헌[de Felipe, Genetic Vaccines and Ther. 2:13 (2004) and de Felipe 등 Traffic 5:616-626 (2004)] 참조). 다양한 2A 요소가 알려져 있다. 본원에 개시된 방법 및 시스템에 사용될 수 있는 2A 서열의 예는 문헌[미국 특허 공개 번호 20070116690]에 기술된 바와 같은 구제역 바이러스(F2A, 예를 들어, 서열 번호: 21), 말비염 A 바이러스(E2A, 예를 들어, 서열 번호: 20), 토세아 아시그나 바이러스(T2A, 예를 들어, 서열 번호: 6 또는 17) 및 돼지 테스코 바이러스-1(P2A, 예를 들어, 서열 번호: 18 또는 19)이 있으며, 하지만 이에 한정되지 않는다.

[0356] 본원에 기술된 재조합 수용체 중 어느 하나는 재조합 수용체를 암호화하는 하나 이상의 핵산 서열을 임의의 조합 또는 배열로 함유하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화될 수 있다. 예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 그 이상의 폴리뉴클레오타이드는 1개, 2개, 3개 또는 그 이상의 상이한 폴리펩타이드, 예를 들어 재조합 수용체를 암호화할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나의 벡터 또는 구조체는 표지자를 암호화하는 핵산 서열을 함유하고, 별도의 벡터 또는 구조체는 재조합 수용체, 예를 들어, CAR을 암호화하는 핵산 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, 표지자를 암호화하는 핵산 및 재조합 수용체를 암호화하는 핵산은 2개의 상이한 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 재조합 수용체를 암호화하는 핵산은 표지자를 암호화하는 핵산의 다운스트림에 존재한다.

[0357] 일부 구현예에서, 벡터 백본은 하나 이상의 표지자를 암호화하는 핵산 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 표지자는 형질도입 표지자, 대리 표지자 및/또는 선택 표지자이다.

[0358] 일부 구현예에서, 표지자는 형질도입 표지자 또는 대리 표지자이다. 형질도입 표지자 또는 대리 표지자는 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 도입된 세포를 검출하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 형질도입 표지자는 세포의 변형을 나타내거나 확인할 수 있다. 일부 구현예에서, 대리 표지자는 재조합 수용체(예를 들어, CAR)와 함께 세포 표면 상에 공발현되도록 만들어진 단백질이다. 구체적인 구현예에서, 상기와 같은 대리 표지자는 거의 또는 전혀 활성을 갖지 않도록 변형된 표면 단백질이다. 특정 구현예에서, 대리 표지자는 재조합 수용체를 암호화하는 동일한 폴리뉴클레오타이드 상에 암호화된다. 일부 구현예에서, 재조합 수용체를 암호화하는 핵산 서열은, 선택적으로 내부 리보솜 유입점(IRES)에 의해 분리되는, 표지자를 암호화하는 핵산 서열에 또는 자가 절단 펩타이드 또는 T2A, P2A, E2A 또는 F2A와 같은 2A 서열과 같은 리보솜 스킵핑을 일으키는 펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 외인성 표지 유전자는 일부 경우에 세포의 검출 또는 선택을 가능하게 하도록, 일부 경우에 또한 세포 자살을 촉진하도록, 조작된 세포와 관련하여 사용될 수 있다.

[0359] 일부 구현예에서, 표지자는 선택 표지자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 외인성 제제 또는 약물에 대한 내성을 부여하는 폴리펩타이드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 항생제 내성 유전자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 포유동물 세포에 대해 항생제 내성을 부여하는 항생제 내성 유전자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 퓨로마이신 내성 유전자, 하이그로마이신 내성 유전자, 블라스티사이드 내성 유전자, 네오마이신 내성 유전자, 게네티신 내성 유전자 또는 제오신 내성 유전자 또는 이들의 변형된 형태이거나 이를 포함한다.

[0360] 일부 구현예에서, 상기 분자는 비자기(non-self) 분자, 예를 들어 비자기 단백질, 즉 세포가 입양으로 전달될 숙주의 면역 시스템에 의해 “자기(self)”로 인식되지 않는 분자이다.

[0361] 일부 구현예에서, 표지자는 치료 기능을 하지 않고/거나 유전자 조작을 위한, 예를 들어 성공적으로 조작된 세포를 선택하기 위한 표지자로서 사용되는 것 외에 다른 효과를 생성하지 않는다. 다른 구현예에서, 표지자는 치료적 분자 또는 달리 일부 원하는 효과를 나타내는 분자, 예컨대 생체 내에서 세포가 조우하게 될 리간드, 예컨

대 입양 전달 및 리간드와의 조우 시 세포의 반응을 강화하고/거나 약화시키는 공자극 또는 면역 관문 분자일 수 있다.

- [0362] 일부 구현예에서, 표지자를 암호화하는 핵산은 절단 가능한 링커 서열(예를 들어, T2A)과 같은 링커 서열을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, 표지자 및 선택적으로 링커 서열은 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 W02014031687]에 개시된 바와 같은 어느 하나일 수 있다. 예를 들어, 표지자는 선택적으로 링커 서열, 예컨대 T2A 절단 가능한 링커 서열에 연결된 절단형 EGFR(tEGFR)일 수 있다. 절단형 EGFR(예를 들어, tEGFR)에 대한 예시적인 폴리펩타이드는 서열 번호: 7 또는 16에 제시된 아미노산 서열 또는 서열 번호: 7 또는 16에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0363] 일부 구현예에서, 표지자는 녹색 형광 단백질(green fluorescent protein, GFP), 강화된 녹색 형광 단백질(EGFP), 예컨대 슈퍼-폴드 GFP(super-fold GFP, sfGFP), 적색 형광 단백질(red fluorescent protein, RFP), 예컨대 tdTomato, mCherry, mStrawberry, AsRed2, DsRed 또는 DsRed2, 시안 형광 단백질(cyan fluorescent protein, CFP), 청록 형광 단백질(blue green fluorescent protein, BFP), 강화된 청색 형광 단백질(EBFP) 및 노랑 형광 단백질(YFP) 및 형광 단백질의 중 변이체, 단량체 변이체, 및 코돈-최적화된 및/또는 강화된 변이체를 포함한 상기들의 변이체와 같은 형광 단백질이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 표지자는 루시페라아제, 대장균(*E. Coli*)의 lacZ 유전자, 알칼리 포스파타아제, 분비 배아 알칼리 포스파타아제(SEAP), 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라아제(CAT)와 같은 효소이거나 이를 포함한다. 예시적인 발광 리포터 유전자에는 루시페라아제(luc), β -갈락토시다아제, 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라아제(CAT), β -글루쿠로니다아제(GUS) 또는 이들의 변이체가 포함된다.
- [0364] 일부 구현예에서, 표지자는 선택 표지자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 외인성 제제 또는 약물에 대한 내성을 부여하는 폴리펩타이드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 항생제 내성 유전자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 포유동물 세포에 대해 항생제 내성을 부여하는 항생제 내성 유전자이다. 일부 구현예에서, 선택 표지자는 퓨로마이신 내성 유전자, 하이그로마이신 내성 유전자, 블라스티사이드인 내성 유전자, 네오마이신 내성 유전자, 게네티신 내성 유전자 또는 제오신 내성 유전자 또는 이들의 변형된 형태이거나 이를 포함한다.
- [0365] 일부 구현예에서, 재조합 핵산은, 예를 들어, 시미안 바이러스 40(SV40), 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스(AAV)로부터 유래된 벡터와 같은 재조합 감염성 바이러스 입자를 사용하여 세포 내로 전달된다. 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 재조합 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터, 예컨대 감마-레트로바이러스 벡터를 사용하여 T 세포 내로 전달된다(예를 들어, 문헌[Koste 등 (2014) *Gene Therapy*, 2014 Apr 3. doi: 10.1038/gt.2014.25; Carlens 등 (2000) *Exp. Hematol.*, 28(10): 1137-46; Alonso-Camino 등 (2013) *Mol. Ther. Nucl. Acids.*, 2, e93; Park 등, *Trends Biotechnol.*, 2011 November 29(11): 550-557] 참조).
- [0366] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터는 아데노 연관 바이러스(AAV)이다.
- [0367] 일부 구현예에서, 레트로바이러스 벡터는 긴 말단 반복 서열(long terminal repeat sequence, LTR), 예를 들어, 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(MoMLV), 골수증식 육종 바이러스(myeloproliferative sarcoma virus, MPSV), 뮤린 배아 줄기세포 바이러스(murine embryonic stem cell virus, MESV), 뮤린 줄기세포 바이러스(murine stem cell virus, MSCV) 또는 비장 병소 형성 바이러스(spleen focus forming virus, SFFV)로부터 유래된 레트로바이러스 벡터를 갖는다. 대부분의 레트로바이러스 벡터는 뮤린 레트로바이러스로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 레트로바이러스는 임의의 조류(avian) 또는 포유동물 세포 공급원으로부터 유래된 것을 포함한다. 레트로바이러스는 통상적으로 인간을 포함하여 몇몇 종의 숙주 세포를 감염시킬 수 있음을 의미하는, 암포트로픽(amphotropic)이다. 일 구현예에서, 발현될 유전자는 레트로바이러스의 gag(꺾), pol(폴) 및/또는 env(엔브) 서열을 대체한다. 다수의 예시적인 레트로바이러스 시스템이 문헌[예를 들어, 미국 특허 번호 5,219,740; 6,207,453; 5,219,740; Miller and Rosman (1989) *BioTechniques* 7:980-990; Miller, A. D. (1990) *Human Gene Therapy* 1:5-14; Scarpa 등 (1991) *Virology* 180:849-852; Burns 등 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:8033-8037; and Boris-Lawrie and Temin (1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109]에 기술되어 있다.
- [0368] 렌티바이러스 형질도입 방법은 알려져 있다. 예시적인 방법이 예를 들어, 문헌[Wang 등 (2012) *J. Immunother.* 35(9): 689-701; Cooper 등 (2003) *Blood*. 101:1637-1644; Verhoeven 등 (2009) *Methods Mol Biol.* 506: 97-114; 및 Cavalieri 등 (2003) *Blood*. 102(2): 497-505]에 기술되어 있다.

- [0369] 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 전기 천공법을 통해 T 세포 내로 전달된다(예를 들어, 문헌[Chicaybam *et al.*, (2013) PLoS ONE 8(3): e60298 and Van Tedeloo 등 (2000) Gene Therapy 7(16): 1431-1437] 참조). 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 전위(transposition)를 통해 T 세포 내로 전달된다(예를 들어, 문헌[Manuri 등 (2010) Hum Gene Ther 21(4): 427-437; Sharma 등 (2013) Molec Ther Nucl Acids 2, e74; and Huang 등 (2009) Methods Mol Biol 506: 115-126] 참조). 면역 세포에 유전 물질을 도입하고 발현시키는 다른 방법에는 인산칼슘 형질주입(예를 들어, 문헌[Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y.]에 기재된 바와 같음), 원형질체 융합, 양이온성 리포솜-매개 형질주입; 텅스텐 입자 촉진 마이크로입자 충격(Johnston, Nature, 346: 776-777 (1990)); 및 인산스트론튬 DNA 공동 침전(Brash 등, Mol. Cell Biol., 7: 2031-2034 (1987))이 포함된다.
- [0370] 재조합 생성물을 암호화하는 핵산 전달을 위한 다른 접근법 및 벡터는 예를 들어, 문헌[국제 특허 출원 공개 번호: W02014055668 및 미국 특허 번호 7,446,190]에 기재된 것이다.
- [0371] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, T 세포)는 증폭 중 또는 증폭 후에 예를 들어 키메라 항원 수용체(CAR)로 형질주입될 수 있다. 원하는 수용체의 유전자 도입을 위한 상기 형질주입은 예를 들어 임의의 적합한 레트로바이러스 벡터로 수행될 수 있다. 이어서 유전자 변형 세포 집단은 초기 자극(예를 들어, 항-CD3/항-CD28 자극)으로부터 유리될 수 있으며, 후속적으로 제2 유형의 자극으로, 예를 들어 드노보(de novo) 도입된 수용체를 통해 자극될 수 있다. 상기 제2 유형의 자극은 새로운 수용체의 프래임워크 내에서 직접 결합하는(예를 들어, 수용체 내의 불변 영역을 인식함으로써) 유전자 도입된 수용체의 펩타이드/MHC 분자, 즉 동종(교차 결합) 리간드(예를 들어, CAR의 천연 리간드) 또는 임의의 리간드(예컨대, 항체) 형태의 항원 자극을 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Cheadle *et al.*, “Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy” *Methods Mol Biol.* 2012; 907:645-66 또는 Barrett 등, Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine Vol. 65: 333-347 (2014)]을 참조한다.
- [0372] 일부 경우에, 세포(예를 들어, T 세포)가 활성화되는 것이 필요하지 않은 벡터를 사용할 수 있다. 상기 일부 경우에, 세포는 활성화되기 전에 선택 및/또는 형질도입될 수 있다. 따라서, 세포는 세포 배양 이전에 또는 이후에 조작될 수 있고, 일부 경우에는 배양의 적어도 일부와 동시에 또는 그 동안에 조작될 수 있다.
- [0373] 추가 핵산 중에서, 예를 들어 도입을 위한 유전자는, 예컨대 전달된 세포의 생존력 및/또는 기능을 촉진함으로써 요법의 효능을 개선하기 위한 유전자; 예컨대 생체 내 생존 또는 국소화를 평가하기 위한 세포의 선택 및/또는 평가를 위한 유전자 표지자를 제공하기 위한 유전자; 문헌[Lupton S. D. 등, *Mol. and Cell Biol.*, 11:6 (1991); and Riddell 등, *Human Gene Therapy* 3:319-338 (1992)]에 기재된 바와 같이 예를 들어 생체 내에서 음성 선택에 세포를 예민하게 만들어 안정성을 개선하기 위한 유전자가 있으며; 또한 우성 양성 선택 가능한 표지자를 음성 선택 가능한 표지자와 융합시켜 유래된 2작용성 선택 가능한 융합 유전자의 용도를 기술하는 문헌[국제 출원 공보 PCT/US91/08442 및 PCT/US94/05601 by Lupton 등]을 참조한다. 예를 들어, 문헌[Riddell 등, 미국 특허 번호 6,040,177의 14-17열]을 참조한다.
- [0374] 유전자 조작을 위한 세포 및 세포 준비. 일부 구현예에서, 핵산은 이중 기원인데, 즉, 다른 유기체 또는 세포로부터 수득된 것과 같이 세포 또는 세포로부터 수득된 샘플에는 정상적으로 존재하지 않으며, 예를 들어, 이는 조작되는 세포 및/또는 그러한 세포가 유래된 유기체에서 보통 발견되지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 핵산은 천연 발생이 아니고, 예컨대 다수의 상이한 세포 유형으로부터 다양한 도메인을 암호화하는 핵산의 키메라 조합을 포함하는 것을 포함해, 자연에서 발견되지 않는 핵산이다.
- [0375] 세포는 일반적으로 포유동물 세포와 같은 진핵 세포이며, 통상적으로 인간 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 혈액, 골수, 림프, 또는 림프성 기관으로부터 유래되며, 선천성 또는 적응성 면역 세포와 같은, 면역 계통의 세포, 예를 들어 림프구, 통상적으로 T 세포 및/또는 NK 세포를 포함한 골수성 또는 림프성 세포이다. 다른 예시적인 세포에는 유도된 다능성 줄기세포(induced pluripotent stem cell: iPSC)를 포함한, 다분화능 및 다능성 줄기세포와 같은 줄기세포가 포함된다. 세포는 통상적으로 대상체로부터 직접 분리되고/거나 대상체로부터 분리되고 동결된 세포와 같은 1차 세포이다. 일부 구현예에서, 세포에는 T 세포 또는 다른 세포 유형의 하나 이상의 서브세트, 예컨대 전체 T 세포 집단, CD4+ 세포, CD8+ 세포 및 이의 하위 집단, 예컨대 기능, 활성화 상태, 성숙도, 분화 가능성, 증폭, 재순환, 국소화 및/또는 지속성 용량, 항원 특이성, 항원 수용체 유형, 특정 기관 또는 구획에의 존재, 표지자 또는 사이토카인 분비 프로파일 및/또는 분화 정도에 의해 정의되는 것이 포함된다. 치료될 대상체와 관련하여, 세포는 동종이제 및/또는 자가 조직될 수 있다. 상기 방법 중에는 기성 방법이 포함된다. 일부 측면에서, 예컨대 기성 기술에 대해, 세포는 유도된 다능성 줄기세포(iPSC)와 같은 줄기세포 등과 같

은 다능성 및/또는 다분화능이다. 일부 구현예에서, 본 방법은 대상체로부터 세포를 단리하고, 세포를 제조, 가공, 배양 및/또는 조작하고, 냉동 보존 전 또는 후에 동일한 대상체에 이 세포를 재도입하는 것을 포함한다.

[0376] T 세포 및/또는 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포의 아형 및 하위 집단 중에는 나이브 T(naive T, T_N) 세포, 효과기 T 세포(effector T cell, T_{EFF}), 기억 T 세포 및 이의 하위-유형, 예컨대 줄기세포 기억 T(stem cell memory T, T_{SCM}), 중심 기억 T(central memory T, T_{CM}), 효과기 기억 T(effector memory T, T_{EM}) 또는 말단 분화된 효과기 기억 T 세포, 종양 침윤성 림프구(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL), 미성숙 T 세포, 성숙 T 세포, 헬퍼 T 세포, 세포독성 T 세포, 점막 연관 불변 T(mucosa-associated invariant T, MAIT) 세포, 천연 발생 및 적응성 조절 T(regulatory T, Treg) 세포, 헬퍼 T 세포, 예컨대 TH1 세포, TH2 세포, TH3 세포, TH17 세포, TH9 세포, TH22 세포, 여포성 헬퍼 T 세포, 알파/베타 T 세포 및 델타/감마 T 세포가 있다.

[0377] 일부 구현예에서, 세포는 자연 살해(natural killer, NK) 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 단핵구 또는 과립구, 예를 들어 골수성 세포, 대식세포, 호중구, 수지상 세포, 비만 세포, 호산구 및/또는 호염기구이다.

[0378] 일부 구현예에서, 세포는 유전자 조작을 통해 도입된 하나 이상의 핵산을 포함하고, 이에 의해 상기 핵산의 재조합 또는 유전자 조작된 생성물을 발현한다. 일부 구현예에서, 핵산은 이중 기원인데, 즉, 다른 유기체 또는 세포로부터 수득된 것과 같이 세포 또는 세포로부터 수득된 샘플에는 정상적으로 존재하지 않으며, 예를 들어, 이는 조작되는 세포 및/또는 그러한 세포가 유래된 유기체에서 보통 발견되지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 핵산은 천연 발생이 아니고, 예컨대 다수의 상이한 세포 유형으로부터 다양한 도메인을 암호화하는 핵산의 키메라 조합을 포함하는 것을 포함해, 자연에서 발견되지 않는 핵산이다.

[0379] 일부 구현예에서, 조작된 세포의 준비는 하나 이상의 배양 및/또는 준비 단계를 포함한다. CAR과 같은 형질전환 수용체(transgenic receptor)를 암호화하는 핵산의 도입을 위한 세포는, 생물학적 샘플, 예를 들어 대상체로부터 수득되거나 유래된 것과 같은 샘플로부터 단리될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포가 단리되는 대상체는 질병 또는 병태가 있거나 세포 요법이 필요하거나 또는 세포 요법이 투여될 대상체이다. 일부 구현예에서, 대상체는 세포가 단리, 가공 및/또는 조작되는 입양 세포 요법과 같은 특정한 치료적 개입이 필요한 인간이다.

[0380] 따라서, 일부 구현예에서 세포는 1차 세포, 예를 들어 1차 인간 세포이다. 샘플에는 대상체에서 직접 채취한 조직, 체액 및 기타 샘플뿐만 아니라 분리, 원심분리, 유전자 조작(예를 들어, 바이러스 벡터를 이용한 형질도입), 세척 및/또는 인큐베이션과 같은 하나 이상의 가공 단계에서 생성된 샘플이 포함된다. 생물학적 샘플은 생물학적 공급원으로부터 직접 수득된 샘플 또는 가공된 샘플일 수 있다. 생물학적 샘플에는 혈액, 혈장, 혈청, 뇌척수액, 활액, 소변 및 땀과 같은 체액, 조직 및 기관 샘플(이들로부터 유래된 가공 샘플 포함)이 포함되나, 이에 한정되지 않는다.

[0381] 일부 측면에서, 세포가 유래되거나 단리된 샘플은 혈액 또는 혈액 유래 샘플이거나, 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 생성물이거나 이로부터 유래된다. 예시적인 샘플에는 전혈, 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 백혈구, 골수, 흉선, 조직 생검, 종양, 백혈병, 림프종, 림프절, 장 관련 림프 조직, 점막 관련 림프 조직, 비장, 기타 림프 조직, 간, 폐, 위, 창자, 결장, 신장, 췌장, 유방, 뼈, 전립선, 자궁경부, 고환, 난소, 편도 또는 기타 기관 및/또는 이들로부터 유래된 세포가 포함된다. 샘플에는 세포 요법, 예를 들어, 입양 세포 요법의 맥락에서 자가 및 동종이체 공급원으로부터 유래된 샘플이 포함된다.

[0382] 일부 구현예에서, 세포는 세포주(예를 들어, T 세포주)로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 세포는 이중성 공급원으로부터, 예를 들어 마우스, 랫트, 비인간 영장류 및 돼지로부터 수득된다.

[0383] 일부 구현예에서, 세포의 단리는 하나 이상의 준비 단계 및/또는 비친화도 기반 세포 분리 단계를 포함한다. 일부 예에서, 세포는 예를 들어 원치 않는 성분의 제거, 원하는 성분의 농축, 특정 시약에 민감한 세포를 용해하거나 제거하기 위해, 하나 이상의 시약의 존재 하에 세척, 원심분리 및/또는 인큐베이션된다. 일부 예에서, 세포는 하나 이상의 특성, 예컨대 밀도, 부착 특성, 크기, 특정 성분에 대한 민감도 및/또는 내성에 기초하여 분리된다.

[0384] 일부 예에서, 대상체의 순환 혈액 유래 세포는 예를 들어 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술에 의해 수득된다. 일부 측면에서, 샘플은 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포, 기타 유핵 백혈구, 적혈구 및/또는 혈소판을 포함한 림프구를 함유하고, 일부 측면에서 적혈구 및 혈소판 이외의 세포를 함유한다.

[0385] 일부 구현예에서, 대상체로부터 채집된 혈액 세포는, 예를 들어 혈장 분획을 제거하고 후속 가공 단계를 위한 적절한 완충제 또는 배지에 세포를 배치하기 위해 세척된다. 일부 구현예에서, 세포는 인산염 완충 식염수

(phosphate buffered saline, PBS)로 세척된다. 일부 구현예에서, 세척 용액에는 칼슘 및/또는 마그네슘 및/또는 많은 또는 모든 2가 양이온이 결여되어 있다. 일부 측면에서, 세척 단계는 제조업체의 지침에 따라 반자동 “플로우-쓰루(flow-through)” 원심 분리기(예를 들어, Cobe 2991 세포 프로세서, Baxter)로 달성된다. 일부 측면에서, 세척 단계는 제조업체의 지침에 따라 접선 유동 여과(tangential flow filtration, TFF)에 의해 달성된다. 일부 구현예에서, 세포는 세척 후 다양한 생체 적합성 완충제, 예를 들어 $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ 이 없는 PBS에 재현탁된다. 특정 구현예에서, 혈액 세포 샘플의 성분이 제거되고 이 세포는 배양 배지에서 직접 재현탁된다.

[0386] 일부 구현예에서, 본 방법은 밀도 기반 세포 분리 방법, 예컨대 적혈구를 용해시켜 말초 혈액으로부터 백혈구의 준비 및 Percoll 또는 Ficoll 구배를 통한 원심분리를 포함한다.

[0387] 일부 구현예에서, 단리 방법은 표면 표지자, 예를 들어, 표면 단백질, 세포내 표지자 또는 핵산과 같은 하나 이상의 특정 분자의 세포에서의 발현 또는 존재에 기초한 상이한 세포 유형의 분리를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 표지자에 기초한 분리를 위한 임의의 알려진 방법이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 분리는 친화도- 또는 면역 친화도-기반 분리이다. 예를 들어, 일부 측면에서 단리에는 하나 이상의 표지자, 통상적으로 세포 표면 표지자의 세포 발현 또는 발현 수준에 기초하여, 예를 들어 상기 표지자에 특이적으로 결합하는 항체 또는 결합 파트너와의 인큐베이션 후 일반적으로 세척 단계 및 항체 또는 결합 파트너와 결합하지 않은 세포로부터 항체 또는 결합 파트너와 결합한 세포의 분리에 의한 세포 및 세포 집단의 분리가 포함된다.

[0388] 상기 분리 단계는 시약에 결합된 세포가 추가 사용을 위해 유지되는 양성 선택 및/또는 항체 또는 결합 파트너에 결합되지 않은 세포가 유지되는 음성 선택에 기초할 수 있다. 일부 예에서, 두 분획 모두 추가 사용을 위해 유지된다. 일부 측면에서, 음성 선택은 이중 집단에서 세포 유형을 특이적으로 식별하는 항체가 이용 가능하지 않은 경우에 특히 유용할 수 있어서, 분리는 원하는 집단 이외의 세포에 의해 발현된 표지자에 기초하여 가장 잘 수행된다.

[0389] 분리는 특정 표지자를 발현하는 특정 세포 집단 또는 세포의 100% 농축 또는 제거로 귀결될 필요는 없다. 예를 들어, 표지자를 발현하는 것과 같은 특정 유형의 세포에 대한 양성 선택 또는 농축은 상기 세포의 수 또는 백분율을 증가시키는 것을 지칭하나, 상기 표지자를 발현하지 않는 세포의 완전한 부재로 귀결될 필요는 없다. 마찬가지로, 표지자를 발현하는 것과 같은 특정 유형의 세포의 음성 선택, 제거 또는 고갈은 상기 세포의 수 또는 백분율을 감소시키는 것을 지칭하나, 상기 모든 세포의 완전한 제거로 귀결될 필요는 없다.

[0390] 일부 예에서, 다수 라운드의 분리 단계가 수행되고, 여기서 한 단계에서 양성 또는 음성 선택된 분획은 후속 양성 또는 음성 선택과 같은 또 다른 분리 단계를 거친다. 일부 예에서, 단일 분리 단계는 예컨대 각각 음성 선택을 위해 표적화된 표지자에 대해 특이적인 다수의 항체 또는 결합 파트너와 세포를 인큐베이션함으로써 다수의 표지자를 발현하는 세포를 동시에 고갈시킬 수 있다. 마찬가지로, 다양한 세포 유형에서 발현되는 복수의 항체 또는 결합 파트너와 세포를 인큐베이션함으로써 다수의 세포 유형이 동시에 양성 선택될 수 있다.

[0391] 예를 들어, 일부 측면에서, 예컨대 하나 이상의 표면 표지자를 높은 수준으로 발현하거나 양성인 세포와 같은 T 세포, 예를 들어 $\text{CD}28^+$, $\text{CD}62\text{L}^+$, $\text{CCR}7^+$, $\text{CD}27^+$, $\text{CD}127^+$, $\text{CD}4^+$, $\text{CD}8^+$, $\text{CD}45\text{RA}^+$ 및/또는 $\text{CD}45\text{RO}^+$ T 세포의 특정 하위 집단은 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 단리된다.

[0392] 예를 들어, $\text{CD}3^+$, $\text{CD}28^+$ T 세포는 항- $\text{CD}3$ /항- $\text{CD}28$ 접합 자성 비드(예를 들어, DYNABEADS® M-450 $\text{CD}3/\text{CD}28$ T Cell Expander)를 사용하여 양성 선택될 수 있다.

[0393] 일부 구현예에서, 단리는 양성 선택에 의한 특정 세포 집단에 대한 농축 또는 음성 선택에 의한 특정 세포 집단의 고갈에 의해 수행된다. 일부 구현예에서, 양성 또는 음성 선택은 각각 양성 또는 음성 선택된 세포 상에서 발현(표지자⁺)되거나 상대적으로 보다 높은 수준으로 발현(표지자^{high})된 하나 이상의 표면 표지자에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 다른 결합제와 세포를 인큐베이션함으로써 달성된다.

[0394] 일부 구현예에서, T 세포는 B 세포, 단핵구 또는 다른 백혈구, 예컨대 $\text{CD}14$ 와 같은 비-T 세포 상에서 발현되는 표지자의 음성 선택에 의해 PBMC 샘플로부터 분리된다. 일부 측면에서, $\text{CD}4^+$ 또는 $\text{CD}8^+$ 선택 단계는 $\text{CD}4^+$ 헬퍼 및 $\text{CD}8^+$ 세포독성 T 세포를 분리하는 데 사용된다. 상기 $\text{CD}4^+$ 및 $\text{CD}8^+$ 집단은, 하나 이상의 나이브(naive), 기억 및/또는 효과기(effector) T 세포 하위 집단 상에서 발현되거나 상대적으로 보다 높은 정도로 발현되는 표지자에 대한 양성 또는 음성 선택에 의해 하위 집단으로 추가 분류될 수 있다.

- [0395] 일부 구현예에서, $CD8^+$ 세포는 예컨대 각각의 하위 집단과 관련된 표면 항원에 기초한 양성 또는 음성 선택에 의해 나이브, 중심 기억, 효과기 기억 및/또는 중심 기억 줄기세포에 대해 추가로 농축되거나 고갈된다. 일부 구현예에서, 중심 기억 $T(T_{CM})$ 세포의 농축은 효능을 증가시키기 위해, 예컨대 투여 후의 장기간 생존, 증폭 및/또는 생착을 향상하기 위해 수행되며, 이는 일부 측면에서 상기 하위 집단에서 특히 견고하다. 문헌[Terakura 등 (2012) *Blood*, 1:72-82; Wang 등 (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701]을 참조한다. 일부 구현예에서, T_{CM} -농축 $CD8^+$ T 세포 및 $CD4^+$ T 세포의 조합은 효능을 더욱 향상시킨다.
- [0396] 일부 구현예에서, 기억 T 세포는 $CD8^+$ 말초 혈액 림프구의 $CD62L^+$ 및 $CD62L^-$ 서브세트 모두에 존재한다. PBMC는 예컨대 항-CD8 및 항-CD62L 항체를 사용하여 $CD62L^-CD8^+$ 및/또는 $CD62L^+CD8^+$ 분획에 대해 농축되거나 고갈될 수 있다.
- [0397] 일부 구현예에서, 중심 기억 $T(T_{CM})$ 세포의 농축은 $CD45RO$, $CD62L$, $CCR7$, $CD28$, $CD3$ 및/또는 $CD127$ 의 양성 또는 고도의 표면 발현에 기초하고; 일부 측면에서, 이는 $CD45RA$ 및/또는 그랜자임 B를 발현하거나 고도로 발현하는 세포에 대한 음성 선택에 기초한다. 일부 측면에서, T_{CM} 세포에 대해 농축된 $CD8^+$ 집단의 단리는 $CD4$, $CD14$, $CD45RA$ 를 발현하는 세포의 고갈 및 $CD62L$ 을 발현하는 세포에 대한 양성 선택 또는 농축에 의해 수행된다. 일 측면에서, 중심 기억 $T(T_{CM})$ 세포에 대한 농축은 $CD4$ 발현에 기초하여 선택된 세포의 음성 분획부터 시작하여 수행되며, 이는 $CD14$ 및 $CD45RA$ 의 발현에 기초한 음성 선택, 및 $CD62L$ 에 기초한 양성 선택을 거친다. 상기 선택은 일부 측면에서 동시에 수행되고 다른 측면에서 순차적으로 어떠한 순서로든 수행된다. 일부 측면에서, $CD8^+$ 세포 집단 또는 하위 집단을 제조하는 데 사용된 동일한 $CD4$ 발현 기반 선택 단계가 $CD4^+$ 세포 집단 또는 하위 집단을 생성하는 데 또한 사용되어, $CD4$ 기반 분리로부터 양성 및 음성 분획 모두가 유지되고, 선택적으로 하나 이상의 추가적인 양성 또는 음성 선택 단계 후에 본 방법의 후속 단계에서 사용된다.
- [0398] 구체적인 예에서, PBMC 샘플 또는 다른 백혈구 샘플은, 음성 및 양성 분획 모두가 유지되는 $CD4^+$ 세포의 선택을 거친다. 이어서 음성 분획은 $CD14$ 및 $CD45RA$ 또는 $CD19$ 의 발현에 기초한 음성 선택 및 $CD62L$ 또는 $CCR7$ 과 같은 중심 기억 T 세포의 표지자 특성에 기초한 양성 선택을 거치고, 양성 및 음성 선택은 어느 순서로든 수행된다.
- [0399] $CD4^+$ T 헬퍼 세포는 세포 표면 항원을 갖는 세포 집단을 식별하여 나이브, 중심 기억 및 효과기 세포(effector cell)로 분류된다. $CD4^+$ 림프구는 표준 방법으로 수득될 수 있다. 일부 구현예에서, 나이브 $CD4^+$ T 림프구는 $CD45RO^-$, $CD45RA^+$, $CD62L^+$, $CD4^+$ T 세포이다. 일부 구현예에서, 중심 기억 $CD4^+$ 세포는 $CD62L^+$ 및 $CD45RO^+$ 이다. 일부 구현예에서, 효과기 $CD4^+$ 세포는 $CD62L^-$ 및 $CD45RO^-$ 이다.
- [0400] 일 예에서, 음성 선택에 의해 $CD4^+$ 세포를 농축하기 위해, 단클론 항체 콕테일은 통상적으로 $CD14$, $CD20$, $CD11b$, $CD16$, $HLA-DR$ 및 $CD8$ 에 대한 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 결합 파트너는 양성 및/또는 음성 선택을 위한 세포의 분리가 가능하도록 자성 비드 또는 상자성 비드와 같은 고체 지지체 또는 매트릭스에 결합된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 세포 및 세포 집단은 면역자성(또는 자성친화도) 분리 기법을 사용하여 분리되거나 단리된다(문헌[Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In Vitro and In Vivo, p 17-25 Edited by: S. A. Brooks and U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ]에서 검토됨).
- [0401] 일부 측면에서, 분리될 세포 샘플 또는 세포 조성물은 작고, 자화 가능한 또는 자성 반응성 물질, 예컨대 자성 반응성 입자 또는 마이크로입자, 예컨대 상자성 비드(예를 들어, Dynalbeads 또는 MACS 비드)와 함께 인큐베이션된다. 자성 반응성 물질(예를 들어, 입자)은 일반적으로 분리하기를 원하는, 예를 들어 음성 또는 양성 선택하기를 원하는 세포, 세포들 또는 세포 집단에 존재하는 분자(예를 들어, 표면 표지자)에 특이적으로 결합하는 결합 파트너(예를 들어, 항체)에 직접 또는 간접적으로 부착된다.
- [0402] 일부 구현예에서, 자성 입자 또는 비드는 항체 또는 다른 결합 파트너와 같은 특이적인 결합 멤버에 결합되는 자성 반응성 물질을 포함한다. 자성 분리 방법에 사용되는 널리 알려진 많은 자성 반응 물질이 있다. 적합한 자성 입자에는 본 명세서에 참조로 통합된 문헌[Molday, 미국 특허 번호 4,452,773 및 유럽 특허 명세서 EP 452342 B]에 기술된 것이 포함된다. 콜로이드 크기의 입자, 예컨대 문헌[Owen 미국 특허 번호 4,795,698 및

Liberti 등, 미국 특허 번호 5,200,084]에 기술된 것이 다른 예이다.

- [0403] 인큐베이션은 일반적으로 항체 또는 결합 파트너 또는 분자, 예컨대 자성 입자 또는 비드에 부착된 상기 항체 또는 결합 파트너에 특이적으로 결합하는 2차 항체 또는 다른 시약이 샘플 내의 세포 상에 존재하는 경우 세포 표면 분자에 특이적으로 결합하는 조건하에서 수행된다.
- [0404] 일부 측면에서, 샘플은 자기장에 배치되고, 자성 반응성 또는 자화 가능 입자가 부착된 세포는 자석에 끌려당겨지고 표지되지 않은 세포로부터 분리될 것이다. 양성 선택의 경우, 자석에 끌려당겨진 세포가 유지되고; 음성 선택의 경우, 끌려당겨지지 않은 세포(비표지 세포)가 유지된다. 일부 측면에서, 양성 및 음성 선택의 조합이 동일한 선택 단계 동안 수행되며, 상기 양성 및 음성 분획은 유지되고 추가적으로 가공되거나 추가적인 분리 단계를 거친다.
- [0405] 특정 구현예에서, 자성 반응성 입자는 1차 항체 또는 다른 결합 파트너, 2차 항체, 렉틴, 효소 또는 스트렙타비딘으로 코팅된다. 특정 구현예에서, 자성 입자는 하나 이상의 표지자에 특이적인 1차 항체의 코팅을 통해 세포에 부착된다. 특정 구현예에서, 비드보다는 세포가 1차 항체 또는 결합 파트너로 표지되고, 이어서 세포 유형 특이적 2차 항체- 또는 다른 결합 파트너(예를 들어, 스트렙타비딘)-코팅된 자성 입자가 첨가된다. 특정 구현예에서, 스트렙타비딘 코팅된 자성 입자는 비오틴화 1차 또는 2차 항체와 함께 사용된다.
- [0406] 일부 구현예에서, 자성 반응성 입자는 후속적으로 인큐베이션, 배양 및/또는 조작될 세포에 부착되어 남아있고; 일부 측면에서, 상기 입자는 환자에게 투여하기 위한 세포에 부착되어 남아있다. 일부 구현예에서, 자화 가능 또는 자성 반응성 입자는 세포로부터 제거된다. 세포에서 자화 가능 입자를 제거하는 방법은 알려져 있고, 예를 들어 경쟁 비-표지 항체, 및 절단 가능한 링커에 접합된 자화 가능 입자 또는 항체 등의 사용을 포함한다. 일부 구현예에서, 자화 가능 입자는 생분해성이다.
- [0407] 일부 구현예에서, 친화도 기반 선택은 자성 활성화 세포 분류(magnetic-activated cell sorting, MACS)(Miltenyi Biotec, Auburn, CA)를 통한 것이다. 자성 활성화 세포 분류(MACS) 시스템은 자화된 입자가 부착되어 있는 세포를 고순도로 선택할 수 있다. 특정 구현예에서, MACS는 외부 자기장을 가한 후에 비 표적 종 및 표적 종(species)이 순차적으로 용리되는 방식으로 작동한다. 즉, 자화된 입자에 부착된 세포는 제자리에 유지되는 반면 부착되지 않은 종은 용리된다. 이어서, 이 제1 용리 단계가 완료된 후, 자기장에 포획되어 용리방지된 종들은 용리 및 회수될 수 있는 상당한 방식으로 해제된다. 특정 구현예에서, 비 표적 세포는 표지되고 이중 세포 집단으로부터 고갈된다.
- [0408] 특정 구현예에서, 단리 또는 분리는 본 방법의 단리, 세포 준비, 분리, 가공, 인큐베이션, 배양 및/또는 제형화 단계 중 하나 이상을 수행하는 시스템, 디바이스 또는 장치를 사용하여 수행된다. 일부 측면에서, 시스템은 예를 들어 오류, 사용자 취급 및/또는 오염을 최소화하기 위해 폐쇄 또는 멸균 환경에서 상기 단계 각각을 수행하는 데 사용된다. 일 예에서, 시스템은 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 W02009/072003, 또는 US 20110003380 A1]에 기술된 바와 같은 시스템이다.
- [0409] 일부 구현예에서, 시스템 또는 장치는 통합 또는 독립 언어 시스템 및/또는 자동화되거나 프로그램 가능한 방식으로 단리, 가공, 조작 및 제형화 단계 중 하나 이상, 예를 들어 모두를 수행한다. 일부 측면에서, 시스템 또는 장치는 사용자가 가공, 단리, 조작 및 제형화 단계의 결과를 프로그램, 제어, 평가하고/거나 가공, 단리, 조작 및 제형화 단계의 다양한 측면을 조정할 수 있게 하는, 상기 시스템 또는 장치와 통신하는 컴퓨터 및/또는 컴퓨터 프로그램을 포함한다.
- [0410] 일부 측면에서, 분리 및/또는 다른 단계는 예를 들어 폐쇄 및 멸균 시스템에서 임상 규모 수준으로 세포의 자동 분리를 위해 CliniMACS 시스템(Miltenyi Biotec)을 사용하여 수행된다. 구성 요소에는 통합 마이크로 컴퓨터, 자성 분리 유닛, 연동 펌프 및 다양한 펀치 밸브가 포함될 수 있다. 일부 측면에서, 통합 컴퓨터는 기기의 모든 구성 요소를 제어하고 시스템에 표준화된 순서로 반복된 절차를 수행하도록 지시한다. 일부 측면에서, 자성 분리 유닛은 이동 가능한 영구 자석 및 선택 컬럼을 위한 홀더를 포함한다. 연동 펌프는 튜빙 세트 전체의 유량을 제어하고, 펀치 밸브와 함께 시스템을 통한 완충제의 흐름 제어와 세포의 지속적인 현탁을 보장한다.
- [0411] 일부 측면에서, CliniMACS 시스템은 멸균, 비발열성 용액에 담겨 공급되는 항체 결합 자화 가능 입자를 사용한다. 일부 구현예에서, 자성 입자로 세포를 표지한 후 세포를 세척하여 과량의 입자를 제거한다. 이어서, 세포 준비 백을 튜빙 세트에 연결하고, 이를 차례로 완충제를 함유한 백 및 세포 채집 백에 연결한다. 튜빙 세트는 전치 컬럼 및 분리 컬럼을 포함한 사전 조립된 멸균 배관으로 구성되며 일회용이다. 분리 프로그램이 시작된 후, 시스템은 세포 샘플을 분리 컬럼에 자동으로 적용한다. 표지된 세포는 컬럼 내에 유지되는 반면, 표지되지

많은 세포는 일련의 세척 단계에 의해 제거된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포 집단은 표지되지 않고 컬럼에 유지되지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포 집단은 표지되고 컬럼에 유지된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포 집단은 자기장을 제거한 후 컬럼으로부터 용리되고, 세포 채집 백 내에 채집된다.

[0412] 특정 구현예에서, 분리 및/또는 다른 단계는 CliniMACS Prodigy 시스템(Miltenyi Biotec)을 사용하여 수행된다. 일부 측면에서, CliniMACS Prodigy 시스템에는 원심분리에 의한 세포의 자동 세척 및 분획화가 가능한 세포 가공 유닛이 구비되어 있다. CliniMACS Prodigy 시스템에는 공급원 세포 생성물의 거시적인 층을 식별하여 최적의 세포 분획화 중점을 결정하는 내장 카메라 및 이미지 인식 소프트웨어도 포함될 수 있다. 예를 들어, 말초 혈액은 적혈구, 백혈구 및 혈장 층으로 자동 분리된다. CliniMACS Prodigy 시스템에는 또한 예를 들어, 세포 분화 및 증폭, 항원 로딩 및 장기 세포 배양과 같은 세포 배양 프로토콜을 달성하는 통합 세포 배양 챔버가 포함될 수 있다. 입력 포트는 배지의 멸균 제거 및 보충을 가능하게 할 수 있고 통합 현미경을 사용하여 세포를 모니터링할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Klebanoff 등 (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura 등 (2012) *Blood*. 117:82-82, and Wang 등 (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701]을 참조한다.

[0413] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 세포 집단은 유세포 분석을 통해 채집 및 농축(또는 고갈)되고, 여기서 다수의 세포 표면 표지자에 대해 염색된 세포는 유체 스트림으로 운반된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 세포 집단은 제조 규모(형광 활성화 세포 분류, FACS) 분류를 통해 채집 및 농축(또는 고갈)된다. 특정 구현예에서, 본원에 기술된 세포 집단은 FACS 기반 검출 시스템과 조합된 미세전자기계 시스템(microelectromechanical system, MEMS) 칩을 사용하여 채집 및 농축(또는 고갈)된다(예를 들어, 문헌[국제 출원 WO 2010/033140, Cho 등 (2010) *Lab Chip* 10, 1567-1573; 및 Godin 등 (2008) *J Biophoton.* 1(5):355-376] 참조). 두 경우 모두에서, 세포는 다수의 표지자로 표지될 수 있으며, 이는 고순도로 명확한 T 세포 서브세트의 단리를 가능하게 한다.

[0414] 일부 구현예에서, 항체 또는 결합 파트너는 하나 이상의 검출 가능한 표지자로 표지되어, 양성 및/또는 음성 선택을 위한 분리를 용이하게 한다. 예를 들어, 분리는 형광 표지 항체에 대한 결합에 기초할 수 있다. 일부 예에서, 하나 이상의 세포 표면 표지자에 특이적인 항체 또는 다른 결합 파트너의 결합에 기초한 세포의 분리는 예를 들어 유세포 분석 검출 시스템과 조합하여 예컨대 제조 규모(FACS) 및/또는 미세전자기계 시스템(MEMS) 칩을 포함하는 형광 활성화 세포 분류(fluorescence-activated cell sorting, FACS)에 의해 유체 스트림에서 수행된다. 상기 방법은 다수의 표지자에 기초하여 양성 및 음성 선택을 동시에 가능하게 한다.

[0415] 일부 구현예에서, 준비 방법은 단리, 인큐베이션 및/또는 조작 전이든 후이든 세포를 동결하는 단계, 예를 들어, 냉동 보존하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 동결 및 후속 해동 단계는 세포 집단에서 과립구 및 어느 정도 단핵구를 제거한다. 일부 구현예에서, 세포는 예를 들어, 혈장 및 혈소판을 제거하기 위한 세척 단계 이후에 동결 용액에서 현탁된다. 일부 측면에서, 알려진 임의의 다양한 동결 용액 및 매개변수가 사용될 수 있다. 일 예는 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민(HSA)을 함유하는 PBS, 또는 다른 적합한 세포 동결 배지를 사용하는 것을 포함한다. 이어서, 상기를 DMSO 및 HSA의 최종 농도가 각각 10% 및 4%가 되도록 배지와 1:1로 희석시킨다. 이어서 세포를 일반적으로 분당 1°C의 속도로 -80°C까지 동결시키고 액체 질소 저장 탱크에 기체상(vapor phase)으로 저장한다.

[0416] 일부 구현예에서, 세포는 유전자 조작 전에 또는 그와 연계하여 인큐베이션 및/또는 배양된다. 인큐베이션 단계는 배양(culture), 육성(cultivation), 자극(stimulation), 활성화(activation) 및/또는 번식(propagation)을 포함할 수 있다. 인큐베이션 및/또는 조작은 배양 용기, 예컨대 유닛, 챔버, 웰(well), 컬럼, 튜브, 튜빙 세트, 밸브, 바이알(vial), 배양 접시, 백(bag) 또는 배양 또는 세포 육성을 위한 다른 용기에서 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물 또는 세포는 자극 조건 또는 자극제의 존재 하에 인큐베이션된다. 상기 조건은 집단에서 세포의 증식, 증폭, 활성화 및/또는 생존을 유도하고, 항원 노출을 모방하고, 및/또는 재조합 항원 수용체의 도입과 같은 유전자 조작을 위해 세포를 프라이밍하도록 설계된 것을 포함한다.

[0417] 상기 조건은 특정 배지, 온도, 산소 함량, 이산화탄소 함량, 시간, 제제(agents), 예를 들어 영양소, 아미노산, 항생제, 이온 및/또는 자극 인자, 예컨대 사이토카인, 케모카인, 항원, 결합 파트너, 융합 단백질, 재조합 용해성 수용체 및 세포를 활성화시키기 위해 설계된 임의의 기타 제제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0418] 일부 구현예에서, 자극 조건 또는 제제는 TCR 복합체의 세포내 신호전달 도메인을 활성화 또는 자극할 수 있는 하나 이상의 제제(예를 들어, 리간드)를 포함한다. 일부 측면에서, 상기 제제는 T 세포에서 TCR/CD3 세포내 신호전달 계단식 다단계 반응을 작동시키거나 개시한다. 상기 제제는 항체, 예컨대 TCR에 특이적인 것, 예를 들어 항-CD3을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 자극 조건은 공자극 수용체, 예를 들어 항-CD28을 자극할 수 있는

하나 이상의 제제(예를 들어, 리간드)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제제 및/또는 리간드는 비드와 같은 고체 지지체 및/또는 하나 이상의 사이토카인에 결합될 수 있다. 선택적으로, 증폭 방법은 (예를 들어, 적어도 약 0.5ng/mL 이상의 농도로) 배양 배지에 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체를 첨가하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 자극제는 IL-2, IL-15 및/또는 IL-7을 포함한다. 일부 측면에서, IL-2 농도는 적어도 약 10단위/mL이다.

[0419] 일부 측면에서, 인큐베이션은 예컨대 문헌[미국 특허 번호 6,040,177 Riddell 등, Klebanoff 등(2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura 등 (2012) *Blood*.1:72-82, 및/또는 Wang 등 (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701]에 기술된 기술에 따라 수행된다.

[0420] 일부 구현예에서, T 세포는 배양-개시 조성물 배양보조 세포, 예컨대 비분할 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에 첨가하고(예를 들어, 생성된 세포의 집단은 증폭될 초기 집단 중 각각의 T 림프구에 대해 적어도 약 5, 10, 20 또는 40 이상의 PBMC 배양보조 세포를 함유하도록); 상기 배양물을 (예를 들어, T 세포 수를 증폭시키기 위해 충분한 시간 동안) 인큐베이션하여, 증폭된다. 일부 측면에서, 비분할 배양보조 세포는 감마-조사된(gamma-irradiated) PBMC 배양보조 세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, PBMC에 약 3000 내지 3600 라드(rad) 범위의 감마선을 조사하여 세포 분열을 방지한다. 일부 측면에서, 배양보조 세포는 T 세포 집단의 첨가 전에 배양 배지에 첨가된다.

[0421] 일부 구현예에서, 자극 조건은 인간 T 림프구의 성장에 적합한 온도, 예를 들어, 적어도 약 25°C 이상, 일반적으로 적어도 약 30°C 이상 및 일반적으로 (약) 37°C를 포함한다. 선택적으로, 인큐베이션은 배양보조 세포로서 비분할 EBV 형질전환 림프아구 세포(LCL)를 첨가하는 것을 더 포함할 수 있다. LCL은 약 6000 내지 10,000 라드 범위의 감마선으로 조사될 수 있다. 일부 측면에서, LCL 배양보조 세포는 임의의 적합한 양으로 제공되며, 예컨대 LCL 배양보조 세포 대 초기 T 림프구의 비가 적어도 약 10:1 이상으로 제공된다.

[0422] 구현예에서, 항원 특이적 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포와 같은 항원 특이적 T 세포는 항원으로 나이트 또는 항원 특이적 T 림프구를 자극하여 획득된다. 예를 들어, 항원 특이적 T 세포주 또는 클론은 감염된 대상체로부터 T 세포를 분리하고 시험관 내에서 상기 세포를 동일한 항원으로 자극함으로써 시토크롬 바이러스 항원에 대해 생성될 수 있다.

[0423] C. 조작된 세포 제조 방법

[0424] 구체적인 구현예에서, 조작된 세포는 하나 이상의 투입 조성물로부터 및/또는 단일 생물학적 샘플로부터 농축된 T 세포의 산출 조성물을 생성하는 프로세스에 의해 생산된다. 특정 구현예에서, 산출 조성물은 재조합 수용체, 예를 들어, CAR, 예컨대 항-BCMA CAR을 발현하는 세포를 함유한다. 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 요법(예를 들어, 자가 세포 요법)으로서 임의의 제공된 방법에 따라 대상체에 투여하기에 적합하다. 일부 구현예에서, 산출 조성물은 농축된 CD3+ T 세포, 또는 농축된 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 조성물이다. T 세포는 핵산이 세포의 게놈 내로 통합되는 조건 하에서 CAR(예를 들어, 항-BCMA CAR)을 암호화하는 핵산의 세포 내 도입을 수반하는 방법에 의해 조작된다. 일부 구현예에서, 조작 방법은 렌티바이러스 벡터 등의 바이러스 벡터를 이용한 형질도입을 포함한다. 구체적인 구현예에서, T 세포는 세포를 올리고머성 시약(예를 들어, 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머)과 접촉시킴으로써 활성화 또는 자극된다. 일부 구현예에서, 세포는 96시간 이하 내에 완료되는 올리고머성 시약(예를 들어, 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머)으로 세포를 자극하는 공정에 의해 조작된다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 상기 공정 동안 세포의 수를 증폭 또는 증가시키는 단계를 포함하지 않는다. 예시적인 제조 방법 및 그러한 방법에 의해 생산된 조작된 세포는 문헌[PCT/US2019/046062]에 개시되며, 이는 그 전체가 참조로 포함된다.

[0425] 구체적인 구현예에서, 제공된 방법은 산출 세포 및/또는 조작된 T 세포의 산출 집단을 생성 또는 생산하기 위한 전체 공정, 예컨대 투입 집단 유래 세포를 자극하는 단계; 자극된 세포를 이종 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 CAR 등의 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 발현 또는 함유하도록 조작, 형질전환, 형질도입, 또는 형질주입하는 단계; 세포를 인큐베이션하고, 세포로부터 자극 시약을 제거 또는 분리하고, 세포를 수확 및 채집하여, 이에 의해 일부 측면에서 조작된 T 세포의 산출 집단을 생성하는 단계 중 일부 또는 전부를 포함하는 공정과 관련하여 사용된다.

[0426] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 산출 세포 및/또는 조작된 T 세포의 산출 집단을 생성 또는 생산하기 위한 전체 공정, 예컨대 생물학적 샘플을 채집 또는 획득하는 단계; 생물학적 샘플로부터 투입 세포를 분리, 선택, 또는 농축하는 단계; 투입 세포를 동결 및 저장하고 이어서 해동하는 단계; 세포를 자극하는 단계; 자극된 세포를

재조합 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 CAR 등의 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 발현 또는 함유하도록 유전자 조작하는 단계; 산출 조성물 내에 조작된 세포를 제형화하는 단계; 및 제형화된 산출 세포를 세포가 대상체에 주입 및/또는 투여를 위해 방출될 때까지 동결 및 저장하는 단계 중 일부 또는 전부를 포함하는 공정과 관련하여 사용된다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은, 예컨대 세포가 투입 집단과 비교하여 세포의 양, 수준 또는 농도의 적어도 3, 4, 5배 또는 그 이상 배수인 임계 양으로 증폭되는 조건 하에 생물반응기에서 세포를 육성함으로써, 상기 공정 동안 세포의 수를 증폭 또는 증가시키는 단계를 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 세포를 유전자 조작하는 단계는 예컨대 바이러스 입자의 존재 하에 세포를 회전 접종한 후 그 세포를 바이러스 입자가 존재하는 정적 조건 하에서 인큐베이션함으로써 바이러스 벡터로 세포를 형질도입하는 단계이거나 이를 포함한다.

[0427] 특정 구현예에서, 자극의 개시부터 세포를 채집, 수확, 또는 제형화하기까지, 조작된 세포를 생성하는 제공된 공정의 총 기간은 (약) 36시간, 42시간, 48시간, 54시간, 60시간, 72시간, 84시간, 96시간, 108시간, 또는 120시간이거나 그 미만이다. 특정 구현예에서, 자극의 개시부터 세포를 채집, 수확, 또는 제형화하기까지, 조작된 세포를 생성하는 제공된 공정의 총 기간은 (약) 1.5일, 2일, 3일, 4일, 또는 5일이거나 그 미만이다. 일부 구현예에서, 자극의 개시부터 세포를 채집, 수확, 또는 제형화하기까지, 조작된 세포를 생성하는 제공된 공정의 총 기간은 (약) 36시간 내지 120시간, 48시간 내지 96시간, 또는 48시간 내지 72시간(수치 포함), 또는 (약) 1.5일 내지 5일, 2일 내지 4일, 또는 2일 내지 3일(수치 포함)이다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션의 개시부터 세포를 수확, 채집, 또는 제형화하기까지 측정된 제공된 공정을 완료하기 위한 시간량은 (약) 48시간, 72시간, 또는 96시간이거나 그 미만이거나 또는 (약) 2일, 3일, 또는 4일이거나 그 미만이다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션의 개시부터 세포를 수확, 채집, 또는 제형화하기까지 측정된 제공된 공정을 완료하기 위한 시간량은 48시간 $\pm$ 6시간, 72시간 $\pm$ 6시간, 또는 96시간 $\pm$ 6시간이다.

[0428] 일부 구현예에서, 예를 들어 섹션 II-C-5에 개시된, 인큐베이션은 자극의 개시 이후 (약) 24시간 내지 120시간, 36시간 내지 108시간, 48시간 내지 96시간 또는 48시간 내지 72시간(수치 포함)에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시로부터 (약) 120시간, 108시간, 96시간, 72시간, 48시간, 또는 36시간에 또는 그 이내에 완료된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 24시간 $\pm$ 6시간, 48시간 $\pm$ 6시간 또는 72시간 $\pm$ 6시간 후에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시 이후 (약) 1일 내지 5일, 1.5일 내지 4.5일, 2일 내지 4일, 또는 2일 내지 3일(수치 포함)에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시로부터 (약) 5일, 4일, 3일, 2일, 또는 1.5일에 또는 그 이내에 완료된다.

[0429] 일부 구현예에서, 전체 공정은 농축된 T 세포, 예를 들어 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 단일 집단으로 수행된다. 특정 구현예에서, 상기 공정은 농축된 T 세포의 단일 산출 집단을 생성 또는 생산하는 공정 전에 및/또는 도중에 조합된 농축된 T 세포(예를 들어, CD4 및 CD8 세포)의 둘 이상의 투입 집단으로 수행된다. 일부 구현예에서, 농축된 T 세포는 조작된 T 세포, 예를 들어, 재조합 수용체를 발현하도록 형질도입된 T 세포이거나 이를 포함한다.

[0430] 일부 구현예에서, 산출 집단, 예를 들어, 조작된 T 세포의 집단이 (i) (약) 18 내지 30시간(수치 포함) 동안 자극 조건에서 T 세포의 또는 이를 함유하는 투입 집단을 인큐베이션하는 단계, (ii) 재조합 수용체를 암호화하는 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 조작된 집단의 T 세포 내로 도입하는 단계, (iii) 그 세포를 인큐베이션하는 단계, 및 이어서 (iv) 인큐베이션된 세포를 채집 또는 수확하는 단계에 의해 생성된다.

[0431] 일부 구현예에서, 상기 세포는 자극 조건 하에 인큐베이션이 개시된 후 36 내지 108시간 또는 1.5일 내지 4.5일 내에 채집 또는 수확된다. 구체적인 구현예에서, 상기 세포는 형질전환된(예를 들어, 유전자 조작된, 형질도입된, 또는 형질주입된) T 세포가 24 내지 48시간 또는 1 내지 2일의 기간 내에 20% 넘게 증가 또는 감소하지 않는 계승 당 안정된 통합된 벡터 카피수(iVCN)를 달성한 후 48시간 또는 2일 내에 채집 또는 수확된다. 일부 구현예에서, 통합된 세포 집단의 측정된 iVCN이 집단 내 측정된 총 벡터 카피수(vector copy number, VCN)의 (약) 20%, 15%, 10%, 또는 5% 이내일 때 안정된 것으로 간주된다. 구체적인 구현예들은 안정된 통합을 달성하기 위해, 세포는 바이러스 벡터가 세포에 접촉 또는 도입된 후, (약) 또는 적어도 48시간, 60시간, 72시간, 또는 1일, 2일, 또는 3일 동안 인큐베이션되어야 함을 고려한다. 일부 구현예에서, 안정된 통합은 (약) 72시간 이내의 인큐베이션에서 이루어진다. 일부 구현예에서, 세포는 형질전환된 T 세포의 총 수가 투입 집단의 세포의 총 수이거나 그 미만인 시점에 채집 또는 수확된다. 다양한 구현예에서, 세포는 투입 집단의 세포가 3회, 2회 또는 1회 넘게 배가되기 전 시점에 채집 또는 수확된다. VCN 및 iVCN 분석법을 위한 예시적인 방법 및 조성물은 문헌 [PCT/US2019/046048]에 개시되며, 이는 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

- [0432] 특정 구현예에서, 산출 집단, 예를 들어, 조작된 T 세포의 집단이, (i) T 세포를 포함하는 투입 집단을 자극 시약, 예를 들어 본원에 예컨대 섹션 II-C-2에 기술된 자극 시약의 존재 하에, 18 내지 30시간(수치 포함) 동안 자극 조건에서 인큐베이션하는 단계; (ii) 예컨대 바이러스 벡터의 존재 하에 자극된 T 세포를 회전 접종함으로써, 제조합 수용체를 암호화하는 바이러스 벡터로, 자극된 T 세포를 형질도입하는 단계; (iii) 형질도입된 T 세포를 정적 조건에서 18시간 내지 96시간(수치 포함) 동안 인큐베이션하는 단계; 및 (iv) 형질전환된 집단의 T 세포를 자극 조건에서 인큐베이션이 개시된 후 (약) 36 내지 108시간 내에 수확하는 단계에 의해 생성된다.
- [0433] 일부 구현예에서, 제공된 방법과 연관된 공정을 대체 공정과 비교한다. 예를 들면, 일부 구현예에서, 본원의 제공된 방법을 세포를 증폭하는 단계를 포함하는 대체 공정과 비교한다. 구체적인 구현예에서, 대체 공정은 제공된 방법과 연관된 공정과 하나 이상의 구체적인 측면에서 다를 수 있지만, 그 외에 비슷한 또는 동일한 특징, 측면, 단계, 병기, 시약, 및/또는 조건을 포함한다. 일부 구현예에서, 대체 공정은 제공된 방법과 연관된 공정과 유사한데, 예를 들어, 증폭을 결여하거나 포함하지 않지만, 상이한 시약 및/또는 배지 유형; 인큐베이션, 형질도입, 형질주입, 및/또는 조작된 세포의 인큐베이션 동안 혈청의 존재; 투입 집단의 상이한 세포 구성, 예를 들어 CD4+ T 세포 대 CD8+ T 세포의 비; 상이한 자극 조건 및/또는 상이한 자극 시약; 상이한 자극 시약 대 세포의 비; 상이한 벡터 및/또는 형질도입 방법; 세포를 인큐베이션, 형질도입, 및/또는 형질주입하는 상이한 시기 또는 순서; 인큐베이션 또는 형질도입 동안 존재하는 하나 이상의 제조합 사이토카인의 부재 또는 차이(예를 들어, 상이한 사이토카인 또는 상이한 농도), 또는 세포를 수확 또는 채집하기 위한 상이한 시기; 중 하나 이상을 포함하나 이에 한정되지 않는 방식으로 상이하다.
- [0434] 일부 구현예에서, 생물학적 샘플 유래 투입 세포(예를 들어, CD4+ 또는 CD8+ T 세포)의 단리, 농축, 및/또는 선택부터 산출 세포가 채집, 제형화, 및/또는 동결 보호되는 시점까지 측정했을 때, 제공된 공정을 완료하는 데 필요한 기간 또는 시간량은 (약) 48시간, 72시간, 96시간, 120시간, 2일, 3일, 4일, 5일, 7일, 또는 10일이거나 그 미만이다. 일부 구현예에서, 단리된, 선택된, 또는 농축된 세포는 자극 전에 동결 보호되지 않으며, 투입 세포의 단리, 농축, 및/또는 선택으로부터 산출 세포가 채집, 제형화, 및/또는 동결 보호되는 시점까지 측정했을 때, 제공된 공정을 완료하는 데 필요한 기간 또는 시간량은 (약) 48시간, 72시간, 96시간, 또는 120시간, 또는 2일, 3일, 4일, 또는 5일이거나 그 미만이다.
- [0435] 특정 구현예에서, 제공된 공정들이 생물학적 샘플로부터 단리, 농축 또는 선택된 세포, 예를 들어 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 집단에 대해 수행된다. 일부 측면에서, 제공된 방법은 다른 방법 또는 공정과 비교하여 생물학적 샘플이 대상체로부터 채집되는 때로부터 단축된 시간량 내에 조작된 T 세포의 조성물을 생산하거나 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 생물학적 샘플, 또는 농축, 단리, 또는 선택된 세포가 자극 또는 형질도입 단계 전에 냉동 보존 및 저장되는 모든 시간을 포함하여, 생물학적 샘플이 대상체로부터 채집되고 조작된 T 세포가 채집, 수확, 또는 제형화될 때까지(예를 들어, 냉동 보존 또는 투여를 위해) (약) 10일, 9일, 8일, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 또는 2일 내에 또는 (약) 120시간, 96시간, 72시간, 또는 48시간 내에, 조작된 T 세포를 생산 또는 생성할 수 있다. 구체적인 구현예에서, 제공된 방법은 생물학적 샘플, 또는 농축, 단리, 또는 선택된 세포가 자극 또는 형질도입 단계 전에 냉동 보존 및 저장되는 모든 시간을 포함하여 생물학적 샘플이 대상체로부터 채집되고 조작된 T 세포가 채집, 수확, 또는 제형화될 때까지 (약) 6일 내지 8일(수치 포함) 내에, 조작된 T 세포를 생산 또는 생성할 수 있다.
- [0436] 특정 구현예에서, 제공된 방법은 산출 세포 및/또는 농축된 T 세포의 산출 집단을 생성 또는 생산하는 공정과 관련하여 사용된다. 구체적인 구현예에서, 산출 세포 및/또는 농축된 T 세포의 산출 집단은, 혈액 샘플 또는 백혈구 성분채집술 샘플 등의 생물학적 샘플로부터 채집, 수득, 단리, 선택, 및/또는 농축된; 자극 조건 하에서 인큐베이션된; 제조합 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 CAR과 같은 제조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 발현 또는 함유하도록 조작된(예를 들어, 형질도입된); 임계 세포 양 또는 밀도까지 인큐베이션된; 및/또는 제형화된 세포이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포는, 예를 들어 공정의 하나 이상 단계 도중, 전에, 및/또는 후에, 이전에 동결 보호되고 해동된다. 일부 구현예에서, 산출 집단은 제조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는 T 세포(예를 들어, CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포)를 함유한다.
- [0437] 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%는 상기 제조합 수용체를 발현한다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 적어도 50%는 상기 제조합 수용체를 발현한다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD3+ T 세포의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%는 상기 제조합 수용체를 발현한다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD3+ T 세포의 적어도 50%는 상기

재조합 수용체를 발현한다. 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 99% 이상은 상기 재조합 수용체를 발현한다. 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포의 적어도 50%는 상기 재조합 수용체를 발현한다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+ T 세포의 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 99% 이상은 상기 재조합 수용체를 발현한다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+ T 세포의 적어도 50%는 상기 재조합 수용체를 발현한다.

[0438] 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정, 예를 들어 하나 이상의 세포를 증폭하는 단계를 포함하는 공정에 의해 생산된 산출 세포와 비교하여 재조합 수용체에 의해 결합 및/또는 인식되는 항원을 발현하는 세포(예를 들어, 표적 세포)에 대해 향상된 세포 용해 활성을 가진다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포가 항원을 발현하는 세포(예를 들어, 표적 세포)에 노출되었을 때, 산출 조성물의 세포는 항원을 발현하는 세포의 (약) 또는 적어도 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%를 사멸시킨다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 비슷한 또는 동일한 조건 하에 대체 공정에 의해 생산된 산출 세포보다 적어도 25%, 50%, 75%, 100%, 150%, 또는 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배 더 많은 양의 항원 발현 세포(예를 들어, 표적 세포)를 사멸시킨다.

[0439] 구체적인 구현예에서, 산출 집단의 세포는 대체 공정, 예를 들어, 하나 이상의 세포를 증폭하는 단계를 포함하는 공정에 의해 생산된 산출 세포와 비교하여 생체 내에서 향상된 항-종양 활성을 가진다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포가 대상체, 예를 들어, 종양 또는 암이 있는 대상체에 투여될 때, 산출 집단의 세포는 대상체에서 종양 세포, 예를 들어, 항원을 발현하는 암 또는 종양 세포의 (약) 또는 적어도 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%를 사멸시킨다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 비슷한 또는 동일한 조건 하에 대체 공정에 의해 생산된 산출 세포보다 생체 내에서 적어도 25%, 50%, 75%, 100%, 150%, 또는 1배, 2배, 3배, 4배, 또는 5배 더 많은 양의 종양 세포를 사멸시킨다.

[0440] 구체적인 구현예에서, 산출 집단의 대부분의 세포는 나이브-유사, 중심 기억, 및/또는 효과기 기억 세포이다. 구체적인 구현예에서, 산출 집단의 대부분의 세포는 나이브-유사 또는 중심 기억 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 대부분의 세포는 CCR7 또는 CD27 발현의 하나 이상에 대해 양성이다. 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포는 대체 공정, 예컨대 증폭을 수반하는 공정으로부터 생성된 산출 집단보다 더 많은 비율의 나이브-유사 또는 중심 기억 세포를 갖는다.

[0441] 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포는 탈진된 및/또는 노화된 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 구체적인 구현예에서, 산출 집단의 세포는 탈진된 및/또는 노화된 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포의 40% 미만, 35% 미만, 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 1% 미만은 탈진 및/또는 노화된다. 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포의 25% 미만은 탈진 및/또는 노화된다. 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포의 10% 미만은 탈진 및/또는 노화된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 낮은 비율을 갖는다.

[0442] 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포는 CD27 및 CCR7 발현, 예를 들어, 표면 발현에 대해 음성인 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 구체적인 구현예에서, 산출 집단의 세포는 CD27- CCR7- 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포의 40% 미만, 35% 미만, 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 1% 미만은 CD27- CCR7- 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포의 25% 미만은 CD27- CCR7- 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포의 10% 미만은 CD27- CCR7- 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포의 5% 미만은 CD27- CCR7- 세포이다.

[0443] 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포는 CD27 및 CCR7 발현, 예를 들어, 표면 발현 중 하나 또는 둘 모두에 대해 양성인 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포는 CD27 및 CCR7 중 하나 또는 둘 모두에 대해 양성인 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 95% 이상은 CD27 및 CCR7 중 하나 또는 둘 모두에 대해 양성이다. 다양한 구현예에서, 산출 집단의 CD4+ CAR+ 세포의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 95% 이상은 CD27 및 CCR7 중 하나 또는 둘 모두에 대해 양성이다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 CD8+ CAR+ 세포의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도

95%, 또는 95% 이상은 CD27 및 CCR7 중 하나 또는 둘 모두에 대해 양성이다.

[0444] 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포는 CD27 및 CCR7 발현, 예를 들어, 표면 발현에 대해 양성인 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포는 CD27+ CCR7+ 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 95% 이상은 CD27+ CCR7+ 세포이다. 다양한 구현예에서, 산출 집단의 CD4+ CAR+ 세포의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 95% 이상은 CD27+ CCR7+ 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 CD8+ CAR+ 세포의 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 95% 이상은 CD27+ CCR7+ 세포이다.

[0445] 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포는 CCR7에 대해 음성 및 CD45RA 발현, 예를 들어, 표면 발현에 대해 양성인 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포는 CCR7-CD45RA+ 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 구체적인 구현예에서, 산출 집단의 세포의 40% 미만, 35% 미만, 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 1% 미만은 CCR7-CD45RA+ 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 집단의 세포의 25% 미만은 CCR7-CD45RA+ 세포이다. 구체적인 구현예에서, 산출 집단의 세포의 10% 미만은 CCR7-CD45RA+ 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 집단의 세포의 5% 미만은 CCR7-CD45RA+ 세포이다.

[0446] 구체적인 구현예에서, 세포는 세포 집단의 (약) 또는 적어도 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 8회, 10회, 20회, 또는 그 이상의 세포 배가, 예를 들어 인큐베이션 중에 일어나는 배가 전에 수확된다. 특정 구현예에서, 세포는 집단의 임의의 배가, 예를 들어 인큐베이션 동안 일어나는 배가 전에 수확된다. 일부 측면에서, 조작 공정 동안 일어날 수 있는 배가를 줄이는 것은 일부 구현예에서, 나이브-유사인 조작된 T 세포의 부분을 증가시킬 것이다. 일부 구현예에서, 조작 공정 도중 배가를 증가시키는 것은 조작 공정 동안 일어날 수 있는 T 세포 분화를 증가시킨다.

[0447] 일부 측면에서, 조작된 세포 조성물을 생성 또는 생산하는 공정에서, 공정 동안, 예를 들어 인큐베이션 동안 일어나는 증폭 또는 세포 배가를 줄이는 것은 결과로 생성되는 조작된 세포 조성물 중 나이브-유사 T 세포의 양 또는 부분을 증가시킨다. 구체적인 측면에서, 공정 도중 일어나는 증폭 또는 세포 배가를 증가시키는 것은 결과로 생성되는 조작된 세포 조성물 중 분화된 T 세포의 양 또는 부분을 증가시킨다. 일부 측면에서, 결과로 생성되는 조작된 세포 조성물에서 나이브-유사 세포의 부분을 증가시키거나 확대시키는 본원에 제공된 방법과 같은 공정은 조작된 세포 조성물의 효력, 효능, 및 지속성을, 예를 들어 투여 후 생체 내에서, 증가시킬 수 있는 것으로 고려된다.

[0448] 1. 유전자 조작을 위한 세포 및 세포 준비

[0449] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 용도, 제조품 또는 조성물과 관련하여 사용되는 T 세포와 같은 세포는 본원에 기술된 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하도록 유전자 조작된 세포이다. 일부 구현예에서, 조작된 세포는 세포 요법, 예를 들어, 입양 세포 요법의 맥락에서 사용된다. 일부 구현예에서, 조작된 세포는 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 조작된 세포는 CD4+ 또는 CD8+ T 세포와 같은 T 세포이다.

[0450] 구체적인 구현예에서, 제공된 방법은 농축된 세포(예를 들어, T 세포)의 하나 이상의 투입 집단을 생성하기 위해 생물학적 샘플에서 세포를 분리, 선택, 및/또는 농축하는 것과 관련하여 사용된다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 특정 질병 또는 병태를 갖거나 세포 요법이 필요하거나 세포 요법이 투여될 대상체 등의 대상체로부터 수득되거나 유래된 것과 같은 생물학적 샘플로부터 세포 또는 이의 집단의 단리를 포함한다. 일부 측면에서, 대상체는 입양 세포 요법(이를 위해 세포가 분리, 가공 및/또는 조작됨)과 같은 특정한 치료적 개입이 필요한 환자인 대상체와 같은 인간이다. 따라서, 일부 구현예에서 세포는 1차 세포, 예를 들어 1차 인간 세포이다. 샘플은 대상체에서 직접 채취한 조직, 체액 및 기타 샘플을 포함한다. 생물학적 샘플은 생물학적 공급원으로부터 직접 수득된 샘플 또는 가공된 샘플일 수 있다. 생물학적 샘플에는 혈액, 혈장, 혈청, 뇌척수액, 활액, 소변 및 땀과 같은 체액, 조직 및 기관 샘플(이들로부터 유래된 가공 샘플 포함)이 포함되나, 이에 한정되지 않는다.

[0451] 일부 측면에서, 샘플은 혈액 또는 혈액 유래 샘플이거나 또는 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 생성물로부터 유래된다. 일부 예에서, 대상체의 순환 혈액 유래 세포는 예를 들어 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술에 의해 수득된다. 일부 측면에서, 샘플은 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포, 기타 유핵 백혈구, 적혈구 및/또는 혈소판을 포함한 림프구를 함유하고, 일부 측면에서 적혈구 및 혈소판 이외의 세포를 함유한다.

[0452] 일부 구현예에서, 대상체로부터 채집된 혈액 세포는, 예를 들어 혈장 분획을 제거하고 후속 가공 단계를 위한

적절한 완충제 또는 배지에 세포를 배치하기 위해 세척된다. 일부 구현예에서, 세포는 인산염 완충 식염수(phosphate buffered saline, PBS)로 세척된다. 일부 구현예에서, 세척 용액에는 칼슘 및/또는 마그네슘 및/또는 많은 또는 모든 2가 양이온이 결여되어 있다. 일부 측면에서, 세척 단계는 제조업체의 지침에 따라 반자동 “플로우-쓰루(flow-through)” 원심 분리기(예를 들어, Cobe 2991 세포 프로세서, Baxter)로 달성된다. 일부 측면에서, 세척 단계는 제조업체의 지침에 따라 접선 유동 여과(tangential flow filtration, TFF)에 의해 달성된다. 일부 구현예에서, 세포는 세척 후 다양한 생체 적합성 완충제, 예를 들어 $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ 이 없는 PBS에 재현탁된다. 특정 구현예에서, 혈액 세포 샘플의 성분이 제거되고 이 세포는 배양 배지에서 직접 재현탁된다.

[0453] 일부 구현예에서, 세포를 함유한 샘플(예를 들어, 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물)은 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 동안 첨가된, 헤파린 같은 하나 이상의 항응고제를 제거하기 위해 세척된다.

[0454] 일부 구현예에서, 세포를 함유한 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 연막 샘플, 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 샘플, 비분획화 T 세포 샘플, 림프구 샘플, 백혈구 샘플, 성분채집술 생성물, 또는 백혈구 성분채집술 생성물)은 냉동 보존 및/또는 동결 보호되고(예를 들어, 동결되고) 이후 세포 집단을 단리, 선택, 활성화, 자극, 조작, 형질도입, 형질주입, 인큐베이션, 배양, 수확, 제형화하고/거나 제형화된 세포 집단을 대상체에 투여하는 임의의 단계들 전에 해동되며 선택적으로 세척된다.

[0455] 일부 구현예에서, 대상체 유래의 자가 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 함유한 샘플은 제조를 위한 적절한 질을 보장하기에 적합한 방법으로 채집된다. 일 측면에서, PBMC를 함유한 샘플은 분획화 전혈로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 대상체 유래 전혈이 원심력을 사용하고 세포 표현형들 간 밀도 차이를 이용하는 백혈구 성분채집술에 의해 분획화되고, 이때 채집된 세포 조성물에서 자가 단핵 세포(MNC)는 우선적으로 농축되는 반면 적혈구 세포와 같은 다른 표현형들은 감소된다. 일부 구현예에서, 자가 혈장이 MNC 채집 동안 동시에 채집되고, 이는 일부 측면에서 백혈구 성분채집술 생성물의 안정성을 확장할 수 있다. 일 측면에서, 자가 혈장은 백혈구 성분채집술 생성물에 첨가되어 백혈구 성분채집술 생성물 매트릭스의 완충용량을 향상시킨다. 일부 측면에서, 백혈구 성분채집술 생성물을 생성하기 위해 가공되는 전혈의 총 부피는 (약) 2L, 4L, 6L, 8L, 10L, 12L, 14L, 16L, 18L, 또는 20L이거나 전술한 임의의 수치 사이의 임의의 값이다. 일부 구현예에서, 채집된 자가 혈장의 부피는 약 10mL, 50mL, 100mL, 150mL, 200mL, 250mL, 또는 300mL, 또는 그 이상이거나, 전술한 임의의 수치 사이의 부피이다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 생성물은 백혈구 성분채집술 채집 완료 후 약 48시간 이내에 한 절차(예를 들어, 공정 내 냉동 보존을 위한 세척 및 제형화)를 거친다. 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집술 생성물은, 예를 들어 백혈구 성분채집술 채집 완료 후 약 2시간, 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 36시간 또는 48시간 내에, 하나 이상의 세척 단계를 거친다. 일부 측면에서, 하나 이상의 세척 단계는 백혈구 성분채집술 채집 중의 항응고제, 백혈구 성분채집술 생성물에 축적됐을 수 있는 세포 폐기물, 잔류 혈소판 및/또는 세포 잔해를 제거한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 완충제 교환이 하나 이상의 세척 단계 동안 수행된다.

[0456] 구체적인 구현예에서, 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물은 냉동 보존 및/또는 동결 보호되고(예를 들어, 동결되고) 이후 아래에 기술된 바와 같이 세포 선택 또는 단리 단계(예를 들어, T 세포 선택 또는 단리 단계)를 거치기 전에 해동된다. 일부 구현예에서, 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물이 T 세포 선택 또는 단리 단계를 거친 후에, 후속 단계들, 예컨대 세포 집단을 단리, 선택, 활성화, 자극, 조작, 형질도입, 형질주입, 인큐베이션, 배양, 수확, 제형화하고/거나 제형화된 세포 집단을 대상체에 투여하는 단계들 도중 또는 사이에 추가적인 냉동 보존 및/또는 동결 보호 단계는 수행되지 않는다. 예를 들면, 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물을 해동하여 선택된 T 세포는 다운스트림 공정, 예컨대 T 세포 활성화/자극 또는 형질도입을 위해 해동 및 선택적으로 세척되기 전에 다시 냉동 보존 및/또는 동결 보호되지 않는다.

[0457] 구체적인 구현예에서, 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물은 냉동 보존 용액 또는 완충액 중 (약) 또는 적어도 5×10^6 개 세포/mL, 10×10^6 개 세포/mL, 20×10^6 개 세포/mL, 30×10^6 개 세포/mL, 40×10^6 개 세포/mL, 50×10^6 개 세포/mL, 60×10^6 개 세포/mL, 70×10^6 개 세포/mL, 80×10^6 개 세포/mL, 90×10^6 개 세포/mL, 100×10^6 개 세포/mL, 110×10^6 개 세포/mL, 120×10^6 개 세포/mL, 130×10^6 개 세포/mL, 140×10^6 개 세포/mL, 또는 150×10^6 개 세포/mL, 또는 전술한 임의의 수치 사이의 임의의 값의 밀도로 냉동 보존 및/또는 동결 보호된다(예를 들어, 동결된다). 일부 구현예에서, 냉동 보존 용액 또는 완충액은 선택적으로 인간 혈청 알부민(HSA) 또는 기타 적합한 세포 동결 배지를 포함하는 DMSO 용액이거나 이를 함유한다.

- [0458] 구체적 구현예에서, 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물은 (예를 들어, 샘플을 동결시키기 전에 T 세포 선택 없이) 예치되며(banked), 이는 일부 측면에서, 후속 제조 단계들에 더 많은 유연성을 부여할 수 있다. 일부 측면에서, 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물은 백(bag) 등과 같은 다수의 냉동 보존 용기 내로 분취되고, 이들은 각 개별로 또는 조합하여 생성물의 가공에 사용될 수 있다. 예를 들면, 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물 내 생존 세포의 총 수가 15×10^9 개 세포 미만일 때, 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물은 백 등과 같은 4개의 냉동 보존 용기 내로 분취된다. 일부 구현예에서, 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물 내 생존 세포의 총 수가 $15-30 \times 10^9$ 개 세포일 때, 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물은 백 등과 같은 8개의 냉동 보존 용기 내로 분취된다.
- [0459] 일 측면에서, 선택 전에 세포를 예치(banking)하면 다운스트림 공정에 대한 세포 수율을 증가시키고, 세포를 더 일찍 예치(banking)하면 세포가 더 건강함을 의미할 수 있고 제조 성공 기준을 충족하기 더 쉬울 수 있다. 다른 측면에서, 일단 해동되면, 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 성분채집술 생성물 또는 백혈구 성분채집술 생성물은 하나 이상의 상이한 선택 방법을 거칠 수 있다. 이 접근법의 이점은, 무엇 보더라도, 예컨대 샘플의 공여체 및/또는 다른 수용자에서, 대상체의 질병 또는 병태의 치료를 위한 세포 요법의 세포의 이용 가능성, 효능, 및/또는 다른 측면들을 향상시키는 것이다.
- [0460] 일부 구현예에서, 샘플(예를 들어, 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플)은 공여체가 질병 또는 병태로 진단된 후의 시점에, 사전 세포 선택 전에 또는 사전 세포 선택 없이(예를 들어, 크로마토그래피에 의한 선택과 같은 사전 T 세포 선택 없이) 채집되고 냉동 보존 및/또는 동결 보호된다. 일부 측면에서, 냉동 보존 시간은 또한 공여체가 질병 또는 병태에 대한 임의의 초기 치료, 질병 또는 병태에 대한 치료에 대해 표지된 임의의 표적화된 치료 또는 임의의 치료, 또는 방사선 및/또는 화학 요법 이외의 임의의 치료 중 하나 이상을 받기 전이다. 일부 구현예에서, 샘플은 질병에 대한 초기 치료 이후 질병의 첫 번째 재발 이후, 및 공여체 또는 대상체가 해당 질병에 대한 후속 치료를 받기 전에 채집된다. 초기 및/또는 후속 치료는 세포 요법 이외의 요법일 수 있다. 일부 구현예에서, 채집된 세포는 초기 및/또는 후속 치료 이후 세포 요법에 사용될 수 있다. 일 측면에서, 사전 세포 선택 없이 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 샘플은 선행 비용, 예컨대 교차할 수 있고 나중에 치료를 필요로 할 수 있는 무작위 임상 시험에서 비-치료 환자와 연관된 비용을 줄이는 데 도움이 될 수 있다.
- [0461] 일부 구현예에서, 샘플(예를 들어, 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플)은 질병에 대한 제2선 치료 이후 질병의 두 번째 재발 이후 및 공여체 또는 대상체가 질병에 대한 후속 치료를 받기 이전 시점에, 사전 세포 선택 전에 또는 사전 세포 선택 없이(예를 들어, 크로마토그래피에 의한 선택 등과 같은 사전 T 세포 선택 없이) 채집되고 냉동 보존 및/또는 동결 보호된다. 일부 구현예에서, 환자들은 제2선 치료 이후, 예를 들어, 특정 위험 인자를 평가함으로써, 재발할 가능성이 있다고 식별된다. 일부 구현예에서, 위험 인자는 이중 유전자 이상 림프종, 원발성 불응성 암, 또는 활성화된 B-세포 림프종 등과 같은 질병 유형 및/또는 유전학에 기초한다. 일부 구현예에서, 위험 인자는 제1선 치료 후 초기 재발, 또는 치료 후 다른 불량한 예후 지표(예를 들어, IPI(국제 예후 지수) > 2) 등의 임상적 표현에 기초한다.
- [0462] 일부 구현예에서, 샘플(예를 들어, 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플)은 공여체 또는 대상체가 질병으로 진단되기 이전 시점에, 사전 세포 선택 전에 또는 사전 세포 선택 없이(예를 들어, 크로마토그래피에 의한 선택과 같은 사전 T 세포 선택 없이) 채집되고 냉동 보존 및/또는 동결 보호된다. 일부 측면에서, 공여체 또는 대상체는 질병이 발병할 위험이 있는 것으로 판정될 수 있다. 일부 측면에서, 공여체 또는 대상체는 건강한 대상체일 수 있다. 특정한 경우에, 공여체 또는 대상체는 세포 요법이 삶의 말기 단계에서 요구되는 경우에, 질병이 발생할 위험이 있는 것으로 간주되지 않거나 또는 질병이 있는 것으로 진단되지 않은 상태에서, 세포를 예치하거나 저장하는 것을 선택할 수 있다. 일부 구현예에서, 공여체 또는 대상체는 유전자 돌연변이, 유전자 이상, 유전자 파괴, 가족력, 단백질 이상(단백질 생산 및/또는 가공과 관련한 결핍 등), 및 질병이 발생할 위험을 증가시킬 수 있는 생활방식 선택과 같은 인자에 기초하여 질병이 발생할 위험이 있는 것으로 간주될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포는 예방약으로서 채집된다.
- [0463] 일부 구현예에서, 사전 세포 선택을 거치지 않은(예를 들어, 크로마토그래피에 의한 선택 등과 같은 사전 T 세포 선택 없이) 세포의 샘플과 같은 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 세포의 샘플(예를 들어, 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플)은 12시간, 24시간, 36시간, 또는 48시간 이상, 또는 0.5일, 1일, 1.5일, 또는 2일의 기간 동안, 저장 또는 예치된다. 일부 구현예에서, 샘플은 1주, 2주, 3주, 또는 4주 이상의 기간 동안 저장 또는

예치된다. 일부 구현예에서, 샘플은 장기 저장되거나 장기 예치된다. 일부 측면에서, 샘플은 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년, 11년, 12년, 13년, 14년, 15년, 16년, 17년, 18년, 19년, 20년, 25년, 30년, 35년, 40년, 또는 그 이상의 기간 동안 저장된다.

[0464] 일부 구현예에서, 공여체로부터 채취된 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플은 냉각된 환경에서 저장 또는 가공 시설로 수송되고, 및/또는 저장 시설에 극저온으로 저장되거나 가공 시설에서 가공된다. 일부 구현예에서, 수송 전에, 샘플은, 예를 들어, CD3+ T 세포, CD4+ T 세포, 및/또는 CD8+ T 세포와 같은 T 세포를 선택함으로써, 가공된다. 일부 구현예에서, 이러한 가공은 수송 이후 및 극저온으로 샘플을 저장하기 전에 수행된다. 일부 구현예에서, 가공은 극저온으로 저장 이후 샘플을 해동한 후 수행된다.

[0465] 공여체, 따라서 그의 세포들이 질병에 대한 광범위한 치료를 받지 않고/거나 질병 또는 병태에 걸리거나 그 예를 보이기 전 시기에 공여체가 자신의 세포를 저장할 수 있게 함으로써, 그러한 세포는 1회 또는 수회의 치료 후 수확된 세포와 비교하여 세포 요법에 사용하는 데 있어 특정 이점이 있을 수 있다. 예를 들면, 1회 이상의 치료 전에 수확된 세포는 수회의 치료를 거친 세포보다 더 건강할 수 있고/거나, 더 높은 수준의 특정 세포 활성을 나타낼 수 있고/거나, 더 빠르게 성장할 수 있고/거나, 유전자 조작에 더 수용적일 수 있다. 본원에 기술된 구현예들에 따른 이점의 다른 예는 편의성을 포함할 수 있다. 예를 들면, 공여체의 세포가 세포 요법에 필요하기 전에 그 세포를 채집하고, 선택적으로 가공하고, 저장함으로써, 그 세포는 수용자가 나중에 그 세포가 필요한 경우 및 필요할 때 용이하게 이용할 수 있다. 이는 성분채집술 실험실 역량을 증가시켜, 기술자에게 성분채집술 채집 공정 일정을 계획하는 데 더 큰 유연성을 제공할 수 있다.

[0466] 성분채집술 샘플과 같은 샘플 유래 세포의 극저온 저장 및 처리를 위한 예시적인 방법 및 시스템은 문헌 [W02018170188]에 기술된 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 방법 및 시스템은 환자가 세포 요법을 필요로 하기 전에 성분채집술 채집을 하고 이후 그 성분채집술 샘플을 나중에 재조합 수용체(예를 들어, CAR)로 세포(예를 들어, T 세포)를 조작하는 공정에 사용하기 위해 냉동 보존하는 것을 수반한다. 일부 경우에, 이러한 공정들은 본원에 기술된 공정들을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 성분채집술 샘플이 대상체로부터 채집되고 세포 집단의 후속적인 T 세포 선택, 활성화, 자극, 조작, 형질도입, 형질주입, 인큐베이션, 배양, 수확, 제형화, 및/또는 제형화된 세포 집단의 대상체 투여 전에 냉동 보존된다. 이러한 예들에서, 냉동 보존된 성분채집술 샘플은 샘플이 본원에 기술된 바와 같은 하나 이상의 선택 단계를 거치기 전에 해동된다.

[0467] 일부 구현예에서, 사전 세포 선택을 거치지 않은(예를 들어, 크로마토그래피에 의한 선택과 같은 사전 세포 선택을 하지 않은) 세포의 샘플과 같은 세포의 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 샘플(예를 들어, 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플)은 세포 요법을 위한 세포 집단, 예를 들어, CAR+ T 세포를 함유한 T 세포 집단의 제조를 위한 다운스트림 공정들에 사용하기 전에 해동된다. 일부 구현예에서, 이러한 냉동 보존 및/또는 동결 보호된 세포의 샘플(예를 들어, 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플)은 CAR+ T 세포 요법과 같은 조작된 T 세포 요법을 위해 본원에 제공된 공정과 관련하여 사용된다. 구체적인 예에서, 수확/제형화 단계 전에 또는 도중에 추가적인 냉동 보존 단계는 수행되지 않는다.

[0468] 일부 구현예에서, 세포 또는 집단의 선택, 단리, 또는 농축은 하나 이상의 준비 단계 및/또는 비친화도 기반 세포 분리 단계를 포함한다. 일부 예에서, 세포는 예를 들어 원치 않는 성분의 제거, 원하는 성분의 농축, 특정 시약에 민감한 세포를 용해하거나 제거하기 위해, 하나 이상의 시약의 존재 하에 세척, 원심분리 및/또는 인큐베이션된다. 일부 예에서, 세포는 하나 이상의 특성, 예컨대 밀도, 부착 특성, 크기, 특정 성분에 대한 민감도 및/또는 내성에 기초하여 분리된다. 일부 구현예에서, 본 방법은 밀도 기반 세포 분리 방법, 예컨대 적혈구를 용해시켜 말초 혈액으로부터 백혈구의 준비 및 Percoll 또는 Ficoll 구배를 통한 원심분리를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, T 세포)는 친화성 크로마토그래피 또는 겔 투과 크로마토그래피를 포함한 컬럼 크로마토그래피 등과 같은 크로마토그래피 단리에 의해 단리, 선택, 또는 농축된다. 일부 구현예에서, 본 방법은 표적 세포, 예를 들어, 단리, 선택, 또는 농축될 세포의 표면 상에 위치하는 수용체 분자에 결합하는 수용체 결합 시약을 이용한다. 이러한 방법은 (무혼적) 세포 친화성 크로마토그래피 기술(CATCH)로 기술될 수 있다. 특정 구현예에서, 선택, 단리, 및 농축을 위한 방법, 기술, 및 시약이 예를 들어 문헌[W02013124474 및 W02015164675]에 기술되어 있고, 이는 그 전체가 참조로 본원에 포함된다.

[0469] 세포 선택은 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼을 사용하여 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼이 폐쇄 시스템에 포함된다. 일부 구현예에서, 폐쇄 시스템은, 예를 들어, 최소 입력이 필요하거나 사용자(예를 들어, 인간) 입력이 필요하지 않은, 자동화 폐쇄 시스템이다. 일부 구현예에서, 세포 선택은

순차적으로 수행된다(예를 들어, 순차적 선택 기술). 일부 구현예에서, 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼이 순차적으로 배열된다. 예를 들면, 제1 컬럼은 동 컬럼의 산출물(예를 들어, 용리액)이, 예를 들어 연결된 튜빙을 통해, 제2 크로마토그래피 컬럼에 공급되도록 배향될 수 있다. 일부 구현예에서, 복수의 크로마토그래피 컬럼이 순차적으로 배열될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 선택은 순차적인 양성 및 음성 선택 단계를 수행함으로써 달성될 수 있고, 후속 단계는 이전 단계의 음성 및/또는 양성 분획을 추가 선택하며, 여기서 전체 공정은 동일한 튜브 또는 튜빙 세트에서 수행된다. 일부 구현예에서, 표적 세포를 함유한 샘플이 순차적 선택을 거치고, 여기서 제1 선택이 수행되어 CD4+ 또는 CD8+ 집단 중 하나를 농축시키고, 제1 선택으로부터 미선택된 세포는 CD4+ 또는 CD8+ 집단 중 다른 하나를 농축하기 위한 제2 선택을 위한 세포의 공급원으로서 사용된다. 일부 구현예에서, 추가 선택 또는 선택들이 수행되어 CD4+ 또는 CD8+ 집단 중 하나 또는 둘 다의 하위-집단들, 예를 들어 중심 기억 T (T_{CM}) 세포, 나이브 T 세포, 및/또는 하나 이상의 표면 표지자, 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및/또는 CD45RO+에 대해 양성이거나 이를 높은 수준으로 발현하는 세포에 대해 농축된다. 일부 구현예에서, 표적 세포를 함유한 샘플이 순차적 선택을 거치고, 여기서 제1 선택이 수행되어 CD3+ 집단에 대해 농축시키고, 선택된 세포는 CD3+ 집단에 대해 농축시키기 위한 제2 선택을 위한 세포의 공급원으로서 사용된다. 일부 구현예에서, 표적 세포를 함유한 샘플이 순차적 선택을 거치고, 여기서 제1 선택이 수행되어 제1 정지상에(예를 들어, 제1 크로마토그래피 컬럼에서) CD3+ 집단에 대해 농축시키고, 비결합 세포를 함유한 통과액은 제2 정지상에(예를 들어, 제2 크로마토그래피 컬럼에서) CD3+ 집단에 대해 농축시키기 위한 제2 선택을 위한 세포의 공급원으로서 사용되며, 이때 제1 및 제2 정지상은 순차적으로 배열된다. 일부 구현예에서, 상기 선택은 (예를 들어, 세포 표면 CD3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 사용함으로써) CD3+ T 세포에 대한 양성 선택이다. 일부 구현예에서, 추가 선택 또는 선택들이 수행되어 CD3+ 집단의 하위-집단들, 예를 들어 중심 기억 T (T_{CM}) 세포, 나이브 T 세포, 및/또는 하나 이상의 표면 표지자, 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및/또는 CD45RO+에 대해 양성이거나 이를 높은 수준으로 발현하는 세포에 대해 농축될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 세포를 함유한 샘플이 순차적 선택을 거치고, 여기서 제1 선택이 수행되어 CD3+ 집단에 대해 농축시키고, 선택된 세포는 CD4+ 집단에 대해 농축시키기 위한 제2 선택을 위한 세포의 공급원으로서 사용된다. 일부 구현예에서, 추가 선택 또는 선택들이 수행되어 CD3+CD4+ 집단의 하위-집단들, 예를 들어 중심 기억 T (T_{CM}) 세포, 나이브 T 세포, 및/또는 하나 이상의 표면 표지자, 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및/또는 CD45RO+에 대해 양성이거나 이를 높은 수준으로 발현하는 세포에 대해 농축될 수 있다. 일부 측면에서, 예컨대 하나 이상의 표면 표지자를 높은 수준으로 발현하거나 양성인 세포와 같은 T 세포(예를 들어, CD3+ 세포), 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+ 및/또는 CD45RO+ T 세포의 특정 하위 집단들은 양성 또는 음성 순차적 선택 기술에 의해 선택된다. 일부 구현예에서, 세포 선택은 병렬로 수행된다(예를 들어, 병렬 선택 기술). 일부 구현예에서, 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼이 병렬로 배열된다. 예를 들면, 2개 이상의 컬럼이, 샘플이 제1 컬럼을 통해 횡단할 필요없이 샘플이 각각의 컬럼에 적용될 수 있게 하는 튜빙을 통해 동시에 2개 이상의 컬럼 상에 샘플이 로드되도록, 배열될 수 있다. 예를 들면, 병렬 선택 기술을 사용하여, 세포 선택은, 예를 들어 전체 공정이 동일한 튜브 또는 튜빙 세트에서 수행되는 폐쇄 시스템에서, 양성 및/또는 음성 선택 단계를 동시에 수행함으로써 달성될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 세포를 함유한 샘플이 병렬 선택을 거치고, 이 샘플은 2 개 이상의 크로마토그래피 컬럼에 로드되며, 여기서 각 컬럼은 세포 집단의 선택을 수행한다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 크로마토그래피 컬럼이 CD3+, CD4+, 또는 CD8+ 집단의 선택을 개별적으로 수행한다. 일부 구현예에서, 친화성 크로마토그래피 또는 겔 투과 크로마토그래피를 포함하는 2개 이상의 크로마토그래피 컬럼은 독립적으로 동일한 세포 집단의 선택을 수행한다. 예를 들면, 2개 이상의 크로마토그래피 컬럼은 CD3+ 세포의 선택을 수행할 수 있다. 일부 구현예에서, 친화성 크로마토그래피 또는 겔 투과 크로마토그래피를 포함하는 2개 이상의 크로마토그래피 컬럼은 독립적으로 상이한 세포 집단의 선택을 수행한다. 예를 들면, 2개 이상의 크로마토그래피 컬럼은 독립적으로 CD3+ 세포, CD4+ 세포, 및 CD8+ 세포의 선택을 수행할 수 있다. 일부 구현예에서, 추가 선택 또는 선택들이 예를 들어 순차적 선택 기술을 사용하여 수행되어 병렬 선택을 통해 선택된 하나 또는 모든 세포 집단의 하위-집단들에 대해 농축시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 선택된 세포

는 중심 기억 T (T_{CM}) 세포, 나이브 T 세포, 및/또는 하나 이상의 표면 표지자, 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및/또는 CD45RO+에 대해 양성이거나 이를 높은 수준으로 발현하는 세포에 대해 추가 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 세포를 함유한 샘플이 병렬 선택을 거치고, 병렬 선택이 수행되어 2개 이상의 컬럼 상에 CD3+ 집단에 대해 농축시킨다. 일부 구현예에서, 추가 선택 또는 선택들이 수행되어 CD3+ 집단의 하위-집단들, 예를 들어 중심 기억 T (T_{CM}) 세포, 나이브 T 세포, 및/또는 하나 이상의 표면 표지자, 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및/또는 CD45RO+에 대해 양성이거나 이를 높은 수준으로 발현하는 세포에 대해 농축될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 세포를 함유한 샘플이 병렬 선택을 거치고, 선택이 수행되어 2개 이상의 컬럼 상에 독립적으로 CD3+ 집단 및 CD4+ 집단에 대해 농축시킨다. 일부 구현예에서, 추가 선택 또는 선택들이 수행되어 CD3+ 및 CD4+ 집단의 하위-집단들, 예를 들어 중심 기억 T (T_{CM}) 세포, 나이브 T 세포, 및/또는 하나 이상의 표면 표지자, 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및/또는 CD45RO+에 대해 양성이거나 이를 높은 수준으로 발현하는 세포에 대해 농축될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 세포를 함유한 샘플이 병렬 선택을 거치고, 병렬 선택이 수행되어 CD4+ 집단 및 CD8+ 집단에 대해 농축시킨다. 일부 구현예에서, 추가 선택 또는 선택들이 수행되어 CD4+ 집단 및 CD8+ 집단의 하위-집단들, 예를 들어 중심 기억 T (T_{CM}) 세포, 나이브 T 세포, 및/또는 하나 이상의 표면 표지자, 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및/또는 CD45RO+에 대해 양성이거나 이를 높은 수준으로 발현하는 세포에 대해 농축될 수 있다. 일부 측면에서, 예컨대 하나 이상의 표면 표지자를 높은 수준으로 발현하거나 양성인 세포와 같은 T 세포(예를 들어, CD3+, CD4+, CD8+ 세포), 예를 들어 CD28+, CD62L+, CCR7+, CD27+, CD127+, CD4+, CD8+, CD45RA+ 및/또는 CD45RO+ T 세포의 특정 하위 집단들은 양성 또는 음성 병렬 선택 기술에 의해 선택된다. 일부 구현예에서, 순차적 및 병렬 선택 기술은 조합하여 사용될 수 있다.

2. 활성화/자극

일부 구현예에서, 세포는 유전자 조작 전에 또는 그와 연계하여 인큐베이션 및/또는 배양된다. 인큐베이션 단계는 배양(culture), 자극(stimulation), 활성화(activation) 및/또는 번식(propagation)을 포함할 수 있다. 인큐베이션 및/또는 조작은 배양 용기, 예컨대 유닛, 챔버, 웰(well), 컬럼, 튜브, 튜빙 세트, 밸브, 바이알(vial), 배양 접시, 백(bag) 또는 배양을 위한 다른 용기에서 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물 또는 세포는 자극 조건 또는 자극제의 존재 하에 인큐베이션된다. 상기 조건은 집단에서 세포의 증식, 증폭, 활성화 및/또는 생존을 유도하고, 항원 노출을 모방하고, 및/또는 재조합 항원 수용체의 도입과 같은 유전자 조작을 위해 세포를 프라이밍하도록 설계된 것을 포함한다.

구체적인 구현예에서, 자극 시약은 TCR 복합체의 세포내 신호전달 도메인을 활성화할 수 있는 하나 이상의 제제(예를 들어, 리간드)에 접합, 연결, 또는 부착된 올리고머성 시약(예를 들어, 스트렙타비딘 뮤테인 시약)을 함유한다. 일부 구현예에서, 상기 하나 이상의 제제는 특정 결합 부위(예를 들어, 결합 부위 Z)에서 올리고머성 시약에 결합할 수 있는 부착된 결합 도메인 또는 결합 파트너(예를 들어, 결합 파트너 C)를 가진다. 일부 구현예에서, 복수의 제제가 올리고머성 시약에 가역적으로 결합된다. 다양한 구현예에서, 올리고머성 시약은 복수의 특정 결합 부위를 가지며, 이는 특정 구현예에서, 결합 도메인(예를 들어, 결합 파트너 C)에서 복수의 제제에 가역적으로 결합된다. 일부 구현예에서, 결합된 시약의 양은 경쟁 시약, 예를 들어, 특정 결합 부위(예를 들어, 결합 부위 Z)에 결합할 수 있는 시약의 존재 하에 줄어들거나 감소된다.

일부 구현예에서, 자극 시약은 적어도 하나의 제제(예를 들어, T 세포와 같은 세포에서 신호를 생산할 수 있는 제제)가 올리고머성 시약과 회합된(예를 들어, 가역적으로 회합된) 가역적 시스템이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 시약은 제제에 결합(예를 들어, 가역적으로 결합)할 수 있는 복수의 결합 부위를 함유한다. 일부 경우에, 상기 시약은 T 세포와 같은 세포에서 신호를 생산할 수 있는 적어도 하나의 부착된 제제를 가진 올리고머성 입자 시약이다. 일부 구현예에서, 상기 제제는 분자의 에피토프 또는 영역에 특이적으로 결합할 수 있는 적어도 하나의 결합 부위(예를 들어, 결합 부위 B)를 함유하고, 또한 적어도 하나의 시약의 결합 부위(예를 들어, 시약의 결합 부위 Z)에 특이적으로 결합하는 결합 파트너(본원에서는 결합 파트너 C라고도 함)를 함유한다. 일부 구현예에서, 결합 파트너 C와 적어도 하나의 결합 부위 Z 사이의 결합 상호작용은 비공유적(non-

covalent) 상호작용이다. 일부 경우에, 결합 파트너 C와 적어도 하나의 결합 부위 Z 사이의 결합 상호작용은 공유적(covalent) 상호작용이다. 일부 구현예에서, 결합 파트너 C와 적어도 하나의 결합 부위 Z 사이의 결합 상호작용, 예컨대 비공유적 상호작용은 가역적이다.

[0474] 이러한 가역적 시스템에서 올리고머성 시약으로서 사용될 수 있는 물질은 알려져 있으며, 예를 들어, 문헌[미국 특허 번호 5,168,049; 5,506,121; 6,103,493; 7,776,562; 7,981,632; 8,298,782; 8,735,540; 9,023,604; 및 국제 공개 PCT 출원 번호 W02013/124474 및 W02014/076277]을 참조한다. 가역적 상호작용을 형성할 수 있는 시약 및 결합 파트너, 뿐만 아니라 이러한 결합을 역전시킬 수 있는 물질(예를 들어, 경쟁 시약)의 비제한적 예는 하기에 기술되어 있다.

[0475] 일부 구현예에서, 올리고머성 시약은 스트렙타비딘, 스트렙타비딘 뮤테인 또는 유사체, 아비딘, 아비딘 뮤테인 또는 유사체(예컨대, 뉴트라비딘) 또는 이들의 혼합물의 올리고머이며, 여기서 이러한 올리고머성 시약은 제제의 결합 도메인(예를 들어, 결합 파트너 C)과 가역적 회합을 위한 하나 이상의 결합 부위를 함유한다. 일부 구현예에서, 제제의 결합 도메인은 비오틴, 비오틴 유도체 또는 유사체, 또는 스트렙타비딘-결합 펩타이드 또는 스트렙타비딘 뮤테인 또는 유사체, 아비딘 또는 아비딘 뮤테인 또는 유사체에 특이적으로 결합할 수 있는 다른 분자일 수 있다.

[0476] 특정 구현예에서, 하나 이상의 제제(예를 들어, T 세포와 같은 세포에서 신호를 생산할 수 있는 제제)는, 예컨대 올리고머성 시약 상에 존재하는 복수의 특정 결합 부위(예를 들어, 결합 부위 Z)를 통해, 올리고머성 시약과 회합한다(예컨대 가역적으로 결합된다). 일부 경우에, 이 결과로 제제는 서로 가깝게 배열되어 만일 제제에 의해 결합되는 또는 인식되는 세포 표면 분자(의 적어도 2개 카피)를 가진 표적 세포가 제제와 접촉하게 되면 결합력 효과(avidity effect)가 발생할 수 있다.

[0477] 일부 구현예에서, 올리고머성 시약은 스트렙타비딘 올리고머, 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머, 스트렙타비딘 유사체 올리고머, 아비딘 올리고머, 아비딘 뮤테인 또는 아비딘 유사체(예컨대, 뉴트라비딘)로 구성된 올리고머 또는 이들의 혼합물이다. 구체적인 구현예에서, 올리고머성 시약은 제제의 결합 도메인(예를 들어, 결합 파트너 C)에 결합할 수 있는 특정 결합 부위를 함유한다. 일부 구현예에서, 결합 도메인은 비오틴, 비오틴 유도체 또는 유사체, 또는 스트렙타비딘-결합 펩타이드 또는 스트렙타비딘 뮤테인 또는 유사체, 아비딘 또는 아비딘 뮤테인 또는 유사체에 특이적으로 결합할 수 있는 다른 분자일 수 있다. 일부 구현예에서, 스트렙타비딘은 야생형 스트렙타비딘, 스트렙타비딘 뮤테인 또는 유사체, 예컨대 스트렙타비딘-유사 폴리펩타이드일 수 있다. 마찬가지로, 일부 측면에서, 아비딘은 야생형 아비딘 또는 뮤테인 또는 뉴트라비딘과 같은 아비딘의 유사체, 통상적으로 보다 중성인 pI를 나타내고 천연 아비딘에 대한 대안으로서 이용 가능한 변형된 아르기닌을 갖는 탈글리코실화된 아비딘을 포함한다. 일반적으로, 아비딘의 탈글리코실화된 중성 형태는 예를 들어, 시그마 알드리치(Sigma Aldrich)를 통해 입수가 가능한 “엑트라비딘(Extravidin)” 또는 써모 사이언티픽(Thermo Scientific) 또는 인비트로젠(Invitrogen)으로부터 입수가 가능한 “뉴트라비딘(NeutralAvidin)”과 같은 상업적으로 입수가 가능한 형태를 포함한다.

[0478] 일부 구현예에서, 시약은 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인 또는 유사체이다. 일부 구현예에서, 야생형 스트렙타비딘(wt-스트렙타비딘)은 문헌[Argarana et al, Nucleic Acids Res. 14 (1986) 1871-1882]에 개시된 아미노산 서열(서열 번호: 256)을 갖는다. 일반적으로, 스트렙타비딘은 자연적으로 4개의 동일한 서브유닛의 4량체로서 발생하며, 즉, 이는 호모-4량체이며, 여기서 각각의 서브유닛은 비오틴, 비오틴 유도체 또는 유사체 또는 비오틴 모방체에 대한 단일 결합 부위를 함유한다. 스트렙타비딘 서브유닛의 예시적인 서열은 서열 번호: 256에 제시된 아미노산의 서열이지만, 이러한 서열은 또한 이의 동족체에 존재하는 다른 스트렙토마이세스 종 유래의 서열을 포함할 수 있다. 특히, 스트렙타비딘의 각 서브유닛은 약 10^{-14} M의 해리 상수(K_d)로 비오틴에 대한 강한 결합 친화도를 나타낼 수 있다. 일부 경우에, 스트렙타비딘은 4개의 결합 부위 중 하나만이 기능성인 1가 4량체(Howarth 등 (2006) Nat. Methods, 3:267-73; Zhang 등 (2015) Biochem. Biophys. Res. Commun., 463:1059-63), 4개의 결합 부위 중 2개가 기능성인 2가 4량체(Fairhead 등 (2013) J. Mol. Biol., 426:199-214)로 존재하거나, 단량체 또는 2량체 형태(Wu 등 (2005) J. Biol. Chem., 280:23225-31; Lim 등 (2010) Biochemistry, 50:8682-91)로 존재할 수 있다.

[0479] 일부 구현예에서, 스트렙타비딘은 임의의 형태, 예컨대 야생형 또는 비변형 스트렙타비딘, 예컨대 스트렙토마이세스 종 유래의 스트렙타비딘 또는 비오틴에 대한 결합 부위를 함유하는 적어도 하나의 기능적 서브유닛, 비오틴 유도체 또는 유사체 또는 비오틴 모방체를 포함하는, 예컨대 일반적으로 서열 번호: 256에 제시된 스트렙토마이세스 아비디니(*Streptomyces avidinii*) 유래의 야생형 스트렙타비딘의 적어도 하나의 기능적 서브유닛 또는

이의 기능적 활성 단편을 함유하는 이의 기능적 활성 단편일 수 있다. 예를 들면, 일부 구현예에서, 스트렙타비딘은 N- 및/또는 C-말단에서 단축된 야생형 스트렙타비딘의 단편을 포함할 수 있다. 이러한 최소 스트렙타비딘은 서열 번호: 256의 아미노산 위치 10 내지 16의 영역에서 N-말단으로 시작하고 서열 번호: 256의 아미노산 위치 133 내지 142의 영역에서 C-말단으로 끝나는 임의의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 스트렙타비딘의 기능적 활성 단편은 서열 번호: 257에 제시된 아미노산의 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, 서열 번호: 257에 제시된 바와 같은 스트렙타비딘은 서열 번호: 256에 제시된 넘버링을 갖는 Ala13에 상응하는 위치에 N-말단 메티오닌을 추가로 함유할 수 있다. 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인에서 잔기의 위치에 대한 참조는 서열 번호: 256에서 잔기의 넘버링을 참조하는 것이다.

[0480] 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인의 예는, 예를 들어, 문헌[WO 86/02077, DE 19641876 A1, US 6,022,951, WO 98/40396 또는 WO 96/24606]에 언급되어 있다. 스트렙타비딘 뮤테인의 예는 본 기술 분야에 알려져 있으며, 예를 들어, 문헌[미국 특허 번호 5,168,049; 5,506,121; 6,022,951; 6,156,493; 6,165,750; 6,103,493; 또는 6,368,813; 또는 국제 공개 PCT 출원 번호 WO2014/076277]을 참조한다.

[0481] 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 비변형 또는 야생형 스트렙타비딘의 일부가 아닌 아미노산을 함유할 수 있거나, 또는 야생형 또는 비변형 스트렙타비딘의 일부만을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 비변형 또는 야생형 스트렙타비딘의 서브유닛과 비교하여, 예컨대 서열 번호 256에 제시된 야생형 스트렙타비딘 서브유닛 또는 예를 들어 서열 번호: 257에 제시된 이의 기능적 활성 단편과 비교하여, 하나 이상의 아미노산 치환(대체)을 가질 수 있는 적어도 하나의 서브유닛을 함유한다.

[0482] 일부 구현예에서, 결합 도메인에 대한 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인의 결합 친화도, 예컨대 해리 상수(K_d)는 1×10^{-4} M, 5×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 5×10^{-5} M, 1×10^{-6} M, 5×10^{-6} M 또는 1×10^{-7} M 미만이지만, 일반적으로 1×10^{-13} M, 1×10^{-12} M 또는 1×10^{-11} M보다 크다. 예를 들면, 문헌[미국 특허 번호 5,506,121]에 개시된 것과 같은 펩타이드 서열(예를 들어, Strep-tag)은 비오틴 모방체로 작용할 수 있고, 예를 들어 대략 10^{-4} 내지 10^{-5} M의 K_d 로 스트렙타비딘에 대한 결합 친화도를 보여준다. 일부 경우에, 결합 친화도는 스트렙타비딘 분자 내에서 돌연변이를 만듦으로써 추가로 개선될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 번호 6,103,493 또는 WO2014/076277 참조). 일부 구현예에서, 결합 친화도는 본원에 기술된 바와 같은 본 기술 분야에 알려진 방법들에 의해 결정될 수 있다.

[0483] 일부 구현예에서, 시약, 예컨대 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인은 펩타이드 리간드 결합 파트너에 대한 결합 친화도를 나타내며, 이 펩타이드 리간드 결합 파트너는 제제(예를 들어, 수용체-결합제 또는 선택제)에 존재하는 결합 파트너 C일 수 있다. 일부 구현예에서, 펩타이드 서열은 일반식(general formula) His-Pro-Xaa를 갖는 서열을 함유하며, 여기서 Xaa는 글루타민, 아스파라긴, 또는 메티오닌이고, 예컨대 서열 번호: 258에 제시된 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, 펩타이드 서열은 서열 번호: 259에 제시된 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, 펩타이드 서열은 서열 번호: 260에 제시된, 예컨대 서열 번호: 261에 제시된 일반식을 갖는다. 일 예에서, 펩타이드 서열은 Trp-Arg-His-Pro-Gln-Phe-Gly-Gly(서열 번호: 262에 제시된, Strep-tag®로도 불림)이다. 일 예에서, 펩타이드 서열은 Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys(서열 번호: 263에 제시된, Strep-tag® II로도 불림)이다. 일부 구현예에서, 펩타이드 리간드는 적어도 2개의 스트렙타비딘-결합 모듈의 순차적 배열을 함유하며, 여기서 2개의 모듈 사이의 거리는 적어도 0개 및 50개 이하의 아미노산이고, 여기서 1개의 결합 모듈은 3 내지 8개의 아미노산을 갖고, 적어도 서열 His-Pro-Xaa를 함유하며, 여기서 Xaa는 글루타민, 아스파라긴 또는 메티오닌이고, 여기서 다른 결합 모듈은 서열 번호: 260에 제시된 바와 같은 동일하거나 상이한 스트렙타비딘 펩타이드 리간드를 갖는다(예를 들어, 문헌[국제 공개 PCT 출원 WO02/077018; 미국 특허 번호 7,981,632] 참조). 일부 구현예에서, 펩타이드 리간드는 서열 번호: 264 또는 265 중 어느 하나에 제시된 화학식(formula)을 갖는 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, 펩타이드 리간드는 서열 번호: 266 내지 270 중 어느 하나에 제시된 아미노산의 서열을 갖는다. 대부분의 경우에, 이 모든 스트렙타비딘 결합 펩타이드는 동일한 결합 부위, 즉 스트렙타비딘의 비오틴 결합 부위에 결합한다. 이러한 스트렙타비딘 결합 펩타이드 중 하나 이상이 결합 파트너 C, 예를 들어 C1 및 C2로서 사용되면, 결합 파트너 C를 통해 하나 이상의 제제에 결합된 다량체화 시약 및/또는 올리고머성 입자 시약은 통상적으로 하나 이상의 스트렙타비딘 뮤테인으로 구성된다.

[0484] 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 문헌[미국 특허 번호 6,103,493]에 기술된 바와 같은 돌연변이체이다. 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 야생형 스트렙타비딘의 아미노산 서열, 예컨대 서열 번호 256에 제시된 아미노산 서열을 기준으로 아미노산 위치 44 내지 53의 영역 내에 적어도 하나의 돌연변이를 함유한다. 일부

구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 하나 이상의 잔기 44, 45, 46 및/또는 47에 돌연변이를 함유한다. 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 야생형 스트렙타비딘의 위치 44의 Glu를 소수성 지방족 아미노산, 예를 들어 Val, Ala, Ile 또는 Leu, 위치 45의 임의의 아미노산, 지방족 아미노산, 예컨대 위치 46의 소수성 지방족 아미노산으로 치환 및/또는 위치 47의 Val을 염기성 아미노산, 예를 들어 Arg 또는 Lys, 예컨대 일반적으로 Arg로 치환을 함유한다. 일부 구현예에서, Ala는 위치 46에 있고/있거나 Arg는 위치 47에 있고/있거나 Val 또는 Ile는 위치 44에 있다. 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 돌연변이체는 서열 번호: 271 또는 서열 번호: 272 또는 273에 제시된 아미노산의 서열을 함유한 예시적인 스트렙타비딘 뮤테인에 제시된 바와 같은 잔기 Val44-Thr45-Ala46-Arg47을 함유한다(스트렙타비딘 돌연변이체 1, SAM1로도 알려짐). 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 서열 번호: 274, 275, 또는 276에 제시된 아미노산의 서열을 함유한 예시적인 스트렙타비딘 뮤테인에 제시된 바와 같은 잔기 Ile44-Gly45-Ala46-Arg47을 함유한다(SAM2로도 알려짐). 일부 경우에, 이러한 스트렙타비딘 뮤테인은 예를 들어 문헌[미국 특허 번호 6,103,493]에 기술되어 있고, 상표 Strep-Tactin®로 상업적으로 입수가능하다. 일부 구현예에서, 뮤테인 스트렙타비딘은 서열 번호: 277 또는 서열 번호: 278에 제시된 아미노산의 서열을 함유한다. 구체적인 구현예에서, 분자는 서열 번호: 257, 272, 275, 277, 279, 273 또는 276 중 임의의 것에 제시된 서열을 포함하는 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인의 4량체이며, 이는 4량체로서 단량체 당 1개의 N-말단 아민 및 4개의 리신을 포함하는 20개의 1차 아민을 함유하는 분자이다.

[0485] 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 펩타이드 리간드(Trp-Arg-His-Pro-Gln-Phe-Gly-Gly; 서열 번호: 262에 제시된, Strep-tag®로도 불림)에 대해 3.7×10^{-5} M 이하 및/또는 펩타이드 리간드(Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys; 서열 번호: 264에 제시된, Strep-tag® II로도 불림)에 대해 7.1×10^{-5} M 이하 및/또는 서열 번호: 264, 264-265, 269-270, 266-268, 261, 262, 258, 260 중 임의의 것에 제시된 임의의 펩타이드 리간드에 대해 7.0×10^{-5} M, 5.0×10^{-5} M, 1.0×10^{-5} M, 5.0×10^{-6} M, 1.0×10^{-6} M, 5.0×10^{-7} M, 또는 1.0×10^{-7} M 미만이지만 일반적으로 1×10^{-13} M, 1×10^{-12} M 또는 1×10^{-11} M보다 큰, 해리 상수(K_d)를 특징으로 하는 결합 친화도를 나타낸다.

[0486] 일부 구현예에서, 스트렙타비딘 뮤테인은 펩타이드 리간드(Trp-Arg-His-Pro-Gln-Phe-Gly-Gly; 서열 번호: 262에 제시된, Strep-tag®로도 불림)에 대해 2.7×10^4 M⁻¹ 이상 및/또는 펩타이드 리간드(Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys; 서열 번호: 264에 제시된, Strep-tag® II로도 불림)에 대해 1.4×10^4 M⁻¹ 이상 및/또는 서열 번호: 264, 264-265, 269-270, 266-268, 261, 262, 258, 260 중 임의의 것에 제시된 임의의 펩타이드 리간드에 대해 1.43×10^4 M⁻¹, 1.67×10^4 M⁻¹, 2×10^4 M⁻¹, 3.33×10^4 M⁻¹, 5×10^4 M⁻¹, 1×10^5 M⁻¹, 1.11×10^5 M⁻¹, 1.25×10^5 M⁻¹, 1.43×10^5 M⁻¹, 1.67×10^5 M⁻¹, 2×10^5 M⁻¹, 3.33×10^5 M⁻¹, 5×10^5 M⁻¹, 1×10^6 M⁻¹, 1.11×10^6 M⁻¹, 1.25×10^6 M⁻¹, 1.43×10^6 M⁻¹, 1.67×10^6 M⁻¹, 2×10^6 M⁻¹, 3.33×10^6 M⁻¹, 5×10^6 M⁻¹, 1×10^7 M⁻¹이지만 일반적으로 1×10^{13} M⁻¹, 1×10^{12} M⁻¹ 또는 1×10^{11} M⁻¹보다 작은, 해리 상수(K_a)를 특징으로 하는 결합 친화도를 나타낸다.

[0487] 구체적인 구현예에서, 복수의 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인 4량체로 구성되고/거나 이를 함유하는 올리고머성 입자 시약이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 올리고머성 입자 시약은 하나 이상의 제제(예를 들어, 자극제 및/또는 선택제)에 가역적으로 결합하거나 가역적으로 결합할 수 있는 복수의 결합 부위를 함유한다. 일부 구현예에서, 올리고머성 입자는 70nm 내지 125nm(수치 포함)의 반경, 예를 들어, 평균 반경; 1×10^7 g/mol 내지 1×10^9 g/mol(수치 포함)의 분자량; 및/또는 1,000 내지 5,000개 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인 4량체(수치 포함)를 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고머성 입자 시약은 세포의 표면 상에서 분자(예를 들어, 수용체)에 결합하는 제제와 같은 하나 이상의 제제에 결합된다(예를 들어, 가역적으로 결합된다). 특정 구현예에서, 하나 이상의 제제는 본원에, 예를 들어, 섹션 II-C-2에 기술된 제제이다. 일부 구현예에서, 제제는 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, 예컨대 결합 파트너, 예를 들어, 스트렙타비딘 결합 펩타이드, 예를 들어, Strep-tag® II를 함유하는 항체 또는 이의 항원 단편이다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 제제는 세포 표면 수용체 및/또는 부속 분자에 결합하여 세포를 자극하고, TCR 복합체를 표적화하는 항체 또는 이의 성분, 공자극 분자를 표적화하는 항체, 항-CD3 항체, 항-CD28 항체, 또는 항-CD3 및/또는 항-CD28 Fab를 포함할 수 있고, 하나 이상의 제제는 결합 파트너, 예를 들어, 스트렙타비딘 결합 펩타이드, 예를 들어, Strep-tag® II를 함유한다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 제제는 Strep-태그된 항-CD3 및

Strep-태그된 항-CD28 Fab에 접합된 스트렙타비딘-기반 올리고머, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고머성 입자 시약은 문헌[W02015/158868 또는 W02018/197949]에 기술된 바와 같은 임의의 것이며, 이 문헌들은 그 전체가 참조로 포함된다.

[0488] 구체적인 구현예에서, 올리고머성 시약은 STREP-TACTIN® M2로 표기되는 예시적인 스트렙타비딘 뮤테인을 중합 시킴으로써 제조된다(예를 들어, 문헌[미국 특허 번호 6,103,493 및 Voss and Skerra (1997) Protein Eng., 1:975-982, 및 Argarana 등 (1986) Nucleic Acids Research, 1871-1882] 참조). 구체적인 구현예에서, 올리고머화를 위한 스트렙타비딘 뮤테인을 제조하기 위해, 하나 이상의 반응성 티올기를 함유하는 스트렙타비딘 뮤테인을 말레이미드 활성화된 스트렙타비딘 뮤테인과 함께 인큐베이션한다. 구체적인 구현예에서, 티올화된 스트렙타비딘 뮤테인을 제조하기 위해, 약 100mg의 스트렙타비딘 뮤테인을 2.6mL의 총 부피로 100mM 보레이트 완충제에서 24° C로 약 8.5의 pH에서 1:100의 몰비로 2-이미노티올레인 히드로클로라이드와 함께 1시간 동안 인큐베이션함으로써 티올화한다. 활성화 반응을 위해, 약 400mg의 스트렙타비딘 뮤테인을 숙신산이미딜-6-[(β-말레이미도프로피온아미도)헥사노에이트 (SMPH)와 1:2의 몰비로 pH 약 7.2에서 24° C에서 1시간 동안 인산나트륨 완충액 중 약 10.4mL의 총 부피로 인큐베이션한다. 티올화 및 활성화 반응은 거의 동시에 시작하도록 조정되고, 반응의 지속시간은 제어된다. 반응 후, PD-10 탈염 컬럼 (GE Healthcare)으로 샘플의 겔 여과를 개별적으로 수행함으로써 2-이미노티올레인 히드로클로라이드 및 SMPH를 샘플로부터 제거한다. 각각의 2.5mL 부피의 샘플에 대해, 1mL PD-10 컬럼을 평형화시키고, 티올화 뮤테인 스트렙타비딘 또는 말레이미드 뮤테인 스트렙타비딘으로 로딩하고, 3.5mL의 커플링 완충제(100mM NaH₂PO₄, 150mM NaCl, 5mM EDTA, pH 7.2)를 첨가함으로써 용리를 수행한다. 말레이미드 뮤테인 스트렙타비딘의 겔 여과를 4개 컬럼 상에서 수행하여 > 10mL이 되도록 하고 용출액을 풀링한다. 활성화 및 티올화 반응의 타이밍 및 활성화 및 티올화 반응의 종료와 올리고머화 반응의 개시 사이의 타이밍이 제어된다. 일반적으로, 10분 이하가 겔 여과의 시작, 즉 활성화 및 티올화 반응의 종료부터 올리고머화 반응이 개시될 때까지 통과하도록 허용된다.

[0489] 구체적인 구현예에서, 이어서 말레이미드 스트렙타비딘 뮤테인 및 티올화된 스트렙타비딘 뮤테인 샘플을 약 17.5mL의 전체 부피로 합하고, 약 600 rpm의 교반 조건 하에 24° C, 7.2의 pH에서 1시간 동안 인큐베이션한다. 2-이미노티올레인 히드로클로라이드보다 4배 더 많은 스트렙타비딘 뮤테인이 SMPH와 함께 인큐베이션되었기 때문에, 티올화된 스트렙타비딘 뮤테인 및 말레이미드 스트렙타비딘 뮤테인의 몰비는 올리고머화 반응 동안 1:4이다. 반응 후, 올리고머화된 스트렙타비딘 뮤테인 시약의 나머지 SH 기는 교반하면서(약 600 rpm) 24° C에서 15분 동안 N-에틸말레이미드 (NEM)와 인큐베이션한 후, 4° C에서 추가로 16 내지 20시간 동안 인큐베이션함으로써 포화된다. NEM과 함께 인큐베이션한 후, 올리고머화된 스트렙타비딘 뮤테인을 함유하는 샘플을 원심분리하고, 상청액을 0.45 μm 막(Millex-HP 0.45 μm, Merck Milipore)을 통과시켜 여과한다. 이어서, 여과된 용액을 AKTA 익스플로러 크로마토그래피 시스템(GE Healthcare)을 갖는 크기 배제 크로마토그래피(SEC)용 컬럼(세파크릴 S-300 HR HiPrep 26/60, GE Healthcare)에 로딩한다. 1500mAU 이상의 밀리 흡광도 단위(mAU)를 갖는 분획을 풀링한다. 올리고머성 스트렙타비딘 뮤테인을 함유하는 풀링된 샘플을 실온에서 15분 동안 6.35의 pH에서 100mM 하이드록실아민으로 처리한다. 처리 후 하이드록실아민을 제거하기 위해, 샘플을 PD10 컬럼 (컬럼 당 2.5mL) 상에 로딩하고, 100mM NaH₂PO₄, 140mM NaCl, 1mM EDTA, pH 7.2를 함유하는 3.5mL의 완충제로 용리한다. PD10 용출액을 풀링하고, 0.45 μm 필터로 멸균 여과하고 이어서 0.22 μm 필터로 멸균 여과한 다음, 샘플을 동결시키고, -80° C에서 저장한다. 동결 전에, 올리고머성 스트렙타비딘 뮤테인 시약의 최종 농도를 측정하고, 올리고머성 스트렙타비딘 뮤테인 시약의 크기를 동적 광 산란(DLS)에 의해 측정한다.

[0490] 일부 구현예에서, 항-CD3 항체 및 항-CD28 Fab 항체와 같은 자극제를 올리고머성 스트렙타비딘 뮤테인 시약에 가역적으로 결합시킴으로써 다량체화하였다. 일부 구현예에서, 자극제, 예를 들어 항-CD3 및 항-CD28 Fab 단편은 각각의 자극제, 예를 들어 각각의 Fab 단편에 융합된 스트렙타비딘 펩타이드-결합 파트너를 통해 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머에 가역적으로 결합된다. 일부 구현예에서, 항-CD3 Fab 단편은 하이브리도마 세포주 OKT3(ATCC® CRL-8001™; 또한 미국 특허 번호 4,361,549 참조)에 의해 생산된 CD3 결합 단클론 항체로부터 유래되고, 문헌 [Arakawa 등, J Biochem 120, 657-662 (1996)]에 기술된 항-CD3 항체 OKT3의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 함유한다. 이 서열들은 서열 번호: 280 및 281에 각각 제시된다. 일부 구현예에서, 항-CD28 Fab 단편은 항체 CD28.3(GenBank 수탁 번호 AF451974.1 하에 합성 단일 사슬 Fv 구조체로서 기탁됨; 또한 문헌 [Vanhove 등, BLOOD, 15 July 2003, Vol. 102, No. 2, pages 564-570] 참조)으로부터 유래되고, 서열 번호: 282 및 283에 각각 제시된 항-CD28 항체 CD28.3의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 함유한다. 예시적인 펩타이드-태그된 Fab 단편에 대해서는, 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 WO 2013/011011 및 WO 2013/124474]을 참조한다.

[0491] 일부 구현예에서, 복수의 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인 4량체로 구성되고/거나 이를 함유하는 올리고머성 입자 시약이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 올리고머성 입자 시약은 하나 이상의 제제(예를 들어, 자극제 및/또는 선택제)에 가역적으로 결합하거나 가역적으로 결합할 수 있는 복수의 결합 부위를 함유한다. 일부 구현예에서, 올리고머성 입자는 80nm 내지 120nm(수치 포함)의 반경, 예를 들어, 평균 반경; 7.5×10^6 g/mol 내지 2×10^8 g/mol(수치 포함)의 분자량, 예를 들어, 평균 분자량; 및/또는 500 내지 10,000개 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 뮤테인 4량체(수치 포함)의 양, 예를 들어, 평균 양을 갖는다. 일부 구현예에서, 올리고머성 입자 시약은 세포의 표면 상에서 분자(예를 들어, 수용체)에 결합하는 제제와 같은 하나 이상의 제제에 결합된다(예를 들어, 가역적으로 결합된다). 일부 구현예에서, 제제는 세포 표면 수용체 및/또는 부속 분자에 결합하여 세포를 자극하는 하나 이상의 제제를 포함한다(예를 들어, 예컨대 TCR 복합체 또는 이의 성분을 표적화하는 항체, 공자극 분자를 표적화하는 항체, 항-CD3 항체, 항-CD28 항체, 또는 항-CD3/항-CD28 Fab). 일부 구현예에서, 제제는 항-CD3 및/또는 항-CD28 Fab인데, 예컨대 결합 파트너, 예를 들어, 스트렙타비딘 결합 펩타이드, 예를 들어, Strep-tag® II를 함유하는 Fab이다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 제제는 결합 파트너, 예를 들어, 스트렙타비딘 결합 펩타이드, 예를 들어, Strep-tag® II를 함유하는 항-CD3 및/또는 항-CD28 Fab이다.

[0492] 일부 구현예에서, 세포는 10^6 개 세포 당 올리고머성 자극 시약(예를 들어, Strep-태그된 항-CD3 및 Strep-태그된 항-CD28 Fab에 접합된, 스트렙타비딘 기반 올리고머, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머) (약) 또는 적어도 0.01 µg, 0.02 µg, 0.03 µg, 0.04 µg, 0.05 µg, 0.1 µg, 0.2 µg, 0.3 µg, 0.4 µg, 0.5 µg, 0.75 µg, 1 µg, 1.2 µg, 1.4 µg, 1.6 µg, 1.8 µg, 2 µg, 3 µg, 4 µg, 5 µg, 6 µg, 7 µg, 8 µg, 9 µg, 또는 10 µg의 존재 하에서 자극되거나 자극을 거친다. 일부 구현예에서, 세포는 10^6 개 세포 당 올리고머성 자극 시약(예를 들어, Strep-태그된 항-CD3 및 Strep-태그된 항-CD28 Fab에 접합된, 스트렙타비딘 기반 올리고머, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머) (약) 4 µg의 존재 하에서 자극되거나 자극을 거친다. 구체적인 구현예에서, 세포는 10^6 개 세포 당 올리고머성 자극 시약(예를 들어, Strep-태그된 항-CD3 및 Strep-태그된 항-CD28 Fab에 접합된, 스트렙타비딘 기반 올리고머, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머) (약) 1.2 µg의 존재 하에서 자극되거나 자극을 거친다. 구체적인 구현예에서, 세포는 10^6 개 세포 당 올리고머성 자극 시약(예를 들어, Strep-태그된 항-CD3 및 Strep-태그된 항-CD28 Fab에 접합된, 스트렙타비딘 기반 올리고머, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머) (약) 0.8 µg의 존재 하에서 자극되거나 자극을 거친다. 구체적인 구현예에서, 세포는 10^6 개 세포 당 올리고머성 자극 시약(예를 들어, Strep-태그된 항-CD3 및 Strep-태그된 항-CD28 Fab에 접합된, 스트렙타비딘 기반 올리고머, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머) (약) 1.8 µg의 존재 하에서 자극되거나 자극을 거친다. 특정 측면에서, 올리고머성 자극 시약 내에서, 올리고머성 입자와 부착된 제제 사이의 질량비는 약 3:1이다. 특정 측면에서, 올리고머성 자극 시약 내에서, 올리고머성 입자, 부착된 항-CD3 Fab, 및 부착된 항-CD28 Fab 사이의 질량비는 약 3:0.5:0.5이다. 특정 측면에서, 4 µg의 올리고머성 자극 시약은 3 µg의 올리고머성 입자 및 1 µg의 부착된 제제(예를 들어, 0.5 µg의 항-CD3 Fab 및 0.5 µg의 항-CD28 Fab)이거나 이를 포함한다. 다른 예에서, 10^6 개 세포 당 1.2 µg의 올리고머성 자극 시약은 10^6 개 세포 당 0.9 µg의 올리고머성 입자 및 0.3 µg의 부착된 제제(예를 들어, 0.15 µg의 항-CD3 Fab 및 0.15 µg의 항-CD28 Fab)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 올리고머성 자극 시약은 무혈청 배지에 첨가되고, 예를 들어 문헌[PCT/US2018/064627]에 기술된 바와 같이 무혈청 배지에서 자극이 수행된다.

[0493] 구체적인 구현예에서, 투입 집단의 (약) 900×10^6 개 T 세포(예를 들어, 900×10^6 개 CD3+ T 세포, 또는 450×10^6 개 CD4+ T 세포 및 450×10^6 개 CD8+ T 세포)의 양이 올리고머성 자극 시약(예를 들어, Strep-태그된 항-CD3 및 Strep-태그된 항-CD28 Fab에 접합된, 스트렙타비딘 기반 올리고머, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머)의 존재 하에 자극 조건 하에서 자극을 거친다(예를 들어, 배양된다). 특정 구현예에서, 세포, 예를 들어, 투입 집단의 세포는 예컨대 (약) 또는 적어도 0.01×10^6 cells/mL, 0.1×10^6 cells/mL, 0.5×10^6 cells/mL, 1.0×10^6 cells/mL, 1.5×10^6 cells/mL, 2.0×10^6 cells/mL, 2.5×10^6 cells/mL, 3.0×10^6 cells/mL, 4.0×10^6 cells/mL, 5.0×10^6 cells/mL, 10×10^6 cells/mL, 또는 50×10^6 cells/mL의 밀도의 자극 시약의 존재 하에, 자극 조건에서 자극되거나 자극을 거친다(예를 들어, 배양된다). 특정 구현예에서, 세포, 예를 들어, 투입 집단의 세포는 예컨대 (약) 또는 적어도 3.0×10^6 cells/mL의 밀도의 자극 시약의 존재 하에, 자극 조건에서 자극

되거나 자극을 거친다(예를 들어, 배양된다).

- [0494] 일부 구현예에서, 산출 집단, 예를 들어, 조작된 T 세포의 집단이: T 세포의 또는 이를 함유하는 투입 집단을 올리고머성 자극 입자 시약, 예를 들어 본원에 기술된 올리고머-기반 자극 시약과 함께 (약) 18 내지 30시간 동안(수치 포함) 인큐베이션하는 것; 자극된 집단의 T 세포 내로 재조합 수용체를 암호화하는 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 도입하는 것, (iii) 세포를 정적 조건 하에 인큐베이션하는 것, (iv) 경쟁 시약을 첨가함으로써 세포로부터 자극 시약을 제거 또는 분리하는 것, 및 (v) 인큐베이션된 세포를 채집 또는 수확하는 것을 포함하는 단계들에 의해 생성된다.
- [0495] 특정 구현예에서, 산출 집단, 예를 들어, 조작된 T 세포의 집단이: T 세포를 포함하는 투입 집단을 자극 조건 하에 18 내지 30시간 동안(수치 포함), 세포 표면 수용체 및/또는 부속 분자에 결합하여 세포를 자극하는 하나 이상의 제제(예를 들어, 예컨대 TCR 복합체 또는 이의 성분을 표적화하는 항체, 공자극 분자를 표적화하는 항체, 항-CD3 항체, 항-CD28 항체, 또는 항-CD3/항-CD28 Fab)에 가역적으로 부착된 스트랩타비딘 뮤테인 올리고머의 존재 하에, 인큐베이션하는 것; 예컨대 자극된 T 세포를 바이러스 벡터의 존재 하에 회전 접종함으로써, 자극된 T 세포를 재조합 수용체를 암호화하는 바이러스 벡터로 형질도입한 후, 형질도입된 T 세포를 정적 조건에서 (약) 42시간 내지 84시간 동안(수치 포함) 인큐베이션하는 것; 및 T 세포를 수확 또는 채집하는 것을 포함하는 단계들에 의해 생성된다.
- [0496] 일부 구현예에서, 조작된 세포의 집단을 생산하기 위한 제공된 방법은: 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인의 존재 하에 T 세포의 투입 집단을, 재조합 IL-2, IL-7, 및 IL-15를 함유하는 무혈청 배지에서, 10^6 개 세포 당 (약) $0.4\mu\text{g}$ 내지 $8\mu\text{g}$ (수치 포함)의 양으로, 예를 들어, 10^6 개 세포 당 $1.2\mu\text{g}$ 의 양으로, 18 내지 30시간 동안(수치 포함) 자극하는 단계; 먼저 693g의 힘에서 30분 동안 바이러스 벡터의 존재 하에 세포를 회전 접종함으로써 재조합 수용체를 암호화하는 바이러스 벡터로 세포를 형질도입하고 이어서 회전 접종된 세포를 바이러스 벡터와 약 24시간 내지 96시간 동안(수치 포함) 인큐베이션하는 단계; 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인을 세포로부터 제거 또는 분리하기 위해 세포에 비오틴(예를 들어, D-비오틴)을 첨가하는 단계; 및 세포를 채집 또는 수확하는 단계 중 하나 이상을 포함한다.
- [0497] 일부 구현예에서, 세포는 자극의 개시로부터 (약) 36시간 내지 96시간(수치 포함) 사이에 수확 또는 채집된다. 다양한 구현예에서, 세포는 자극의 개시 이후 36시간 내지 108시간 또는 48시간 내지 96시간(수치 포함) 사이에 수확 또는 채집된다. 구체적인 구현예에서, 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인은 자극의 개시 이후 36시간 내지 96시간 또는 48시간 내지 72시간(수치 포함) 사이에 세포로부터 제거 또는 분리된다.
- [0498] 일부 구현예에서, 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인은 자극의 개시로부터 (약) 48시간 후에, 예를 들어 48시간 ± 6 시간 후에, (예를 들어, 섹션 II-C-6에 기술된 바와 같이) 세포로부터 제거 또는 분리된다. 구체적인 구현예에서, 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인은 자극의 개시로부터 (약) 72시간 후에, 예를 들어, 72시간 ± 6 시간 후에 세포로부터 제거 또는 분리된다. 구체적인 구현예에서, 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인은 자극의 개시로부터 (약) 96시간 후에, 예를 들어, 96시간 ± 6 시간 후에 세포로부터 제거 또는 분리된다. 구체적인 구현예에서, 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인은 인큐베이션 이후에 세포로부터 제거 또는 분리되며, 세포는 비오틴 또는 비오틴 유사체의 첨가 이후에 채집 또는 수확된다. 특정 구현예에서, 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인은 인큐베이션 동안 세포로부터 제거 또는 분리되며, 세포는 비오틴 또는 비오틴 유사체의 첨가 후 인큐베이션으로 복귀된다.
- [0499] 일부 구현예에서, 인큐베이션은 무혈청 배지에서 재조합 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-7, 및 IL-15)의 존재 하에 수행된다. 특정 구현예에서, 인큐베이션은 재조합 사이토카인의 부재 하에 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 기본 배지의 존재 하에 수행된다. 특정 구현예에서, 기본 배지에서 인큐베이션은, 올리고머성 자극 시약으로 자극된 세포가 재조합 사이토카인을 함유하는 무혈청 배지의 존재 하에 인큐베이션되는 공정과 비교하여, 통합, 예를 들어 이중 또는 재조합 뉴클레오타이드의 안정한 통합을 증가시키거나, 재조합 수용체를 발현하는 세포의 백분율을 증가시키거나, 효능을 개선시키거나, 또는 세포의 분화를 감소시킨다.
- [0500] 구체적인 구현예에서, 올리고머성 자극 시약, 예를 들어 가역적으로 부착된 항-CD3/항-CD28 Fab를 갖는 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인의, 예컨대 비오틴 또는 비오틴 유사체의 첨가에 의한, 제거는, 자극 시약이 세포로부터

터 분리 또는 제거될 때 발생할 수 있는 세포 손실의 양을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 올리고머성 자극 시약이 세포로부터 분리되거나 제거될 때, 세포의 (약) 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 또는 5% 미만이 세포 집단으로부터 손실되거나, 사멸되거나, 분리된다. 특정 구현예에서, 자극을 위해 올리고머성 자극 시약을 사용하는 공정들로부터 생성된 산출 집단은 항체 접합 상자성 비드와 같은 대체 자극 시약을 이용하는 공정들로부터 생성된 산출 집단보다 (약) 또는 적어도 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 또는 50% 더 많은 총 세포를 갖는다.

[0501] **3. 유전자 조작을 위한 벡터 및 방법**

[0502] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 용도, 제조품 또는 조성물과 관련하여 사용되는 T 세포와 같은 조작된 세포는 본원에 기술된 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하도록 유전자 조작된 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 재조합 수용체 및/또는 다른 분자를 암호화하는 핵산 서열의 도입, 전달 또는 전이에 의해 조작된다.

[0503] 일부 구현예에서, 조작된 세포를 생산하는 방법은 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 세포(예를 들어, 예컨대 자극된 또는 활성화된 세포)에 도입하는 것을 포함한다. 구체적인 구현예에서, 재조합 단백질은 기술된 임의의 것과 같은 재조합 수용체이다. 세포에 재조합 수용체와 같은 재조합 단백질을 암호화하는 핵산 분자의 도입은 알려진 다수의 임의의 벡터를 사용하여 수행될 수 있다. 상기 벡터에는 렌티바이러스 및 감마레트로바이러스 시스템을 포함한 바이러스 및 비-바이러스 시스템뿐만 아니라 PiggyBac 또는 Sleeping Beauty 기반 유전자 전달 시스템과 같은 트랜스포손 기반 시스템이 포함된다. 예시적인 방법은 바이러스성(예를 들어, 레트로바이러스 또는 렌티바이러스성) 형질도입, 트랜스포손 및 전기 천공법을 통한 것을 포함하여 수용체를 암호화하는 핵산의 전이를 위한 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 조작은 하나 이상의 조작된 농축된 T 세포 조성물을 생산한다.

[0504] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 세포를 유전자 조작하는 것, 예를 들어 재조합 단백질을 암호화하는 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 도입하는 것을 포함한다. 상기 재조합 단백질은 섹션 II-A에 기술된 임의의 것과 같은 재조합 수용체를 포함할 수 있다. 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 T 세포와 같은 세포의 계능 내로 통합을 초래할 수 있는 이중 또는 재조합 수용체를 도입하는 임의의 방법은 유전자 조작의 바이러스 및 비바이러스 방법을 포함하여, 사용될 수 있다. 세포 내로 재조합 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드)의 도입은 임의의 알려진 다수의 벡터를 사용하여 수행될 수 있다. 이러한 벡터는 렌티바이러스 및 감마레트로바이러스를 포함하여 바이러스 시스템을 포함한다. 예시적인 방법은 바이러스성(예를 들어, 레트로바이러스 또는 렌티바이러스성) 형질도입을 통한 것을 포함하여 수용체를 암호화하는 이중 폴리뉴클레오타이드의 전이를 위한 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 자극된 세포의 집단은, 예컨대 재조합 수용체를 암호화하는 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 도입하여 형질전환된 세포의 집단(본원에서 세포의 형질전환된 집단으로도 지칭됨)을 생성하도록, 유전자 조작된다.

[0505] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 세포를 유전자 조작하는 것, 예를 들어 비-바이러스 방법, 예컨대 전기 천공, 인산칼슘 형질주입, 원형질체 융합, 양이온성 리포솜-매개 형질주입, 나노입자, 예컨대 지질 나노입자, 텅스텐 입자 촉진 마이크로입자 충격, 인산스트론튬 DNA 공동 침전, 및 예를 들어 문헌[W0 2014055668, 및 미국 특허 번호 7,446,190]에 기술된 다른 접근법을 사용하여, 재조합 단백질을 암호화하는 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 도입하는 것을 포함한다. 트랜스포손 기반 시스템 또한 고려된다.

[0506] 구체적인 구현예에서, 세포는, 세포가 자극 조건 하에, 예컨대 본원에, 예를 들어 섹션 II에, 제공된 임의의 방법에 의해 자극, 활성화 및/또는 인큐베이션된 후에 유전자 조작, 형질전환 또는 형질도입된다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 자극된 집단은 이전에 동결 보호 및 저장되었고, 세포를 유전자 조작, 형질전환, 형질주입, 또는 형질도입하기 전에 해동되고 선택적으로 세척된다.

[0507] 구체적인 구현예에서, 세포는 세포가 자극 조건에서 자극되거나 자극을 거치거나 배양된 후에 유전자 조작, 형질전환, 또는 형질도입된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 자극의 개시로부터 (약) 72시간, 60시간, 48시간, 36시간, 24시간, 또는 12시간에 또는 그 이내에(수치 포함) 유전자 조작, 형질전환, 또는 형질도입된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 자극의 개시로부터 (약) 3일, 2일, 또는 1일에 또는 그 이내에(수치 포함) 유전자 조작, 형질전환, 또는 형질도입된다. 특정 구현예에서, 세포는 자극의 개시 이후 (약) 12시간 내지 48시간, 16시간 내지 36시간, 또는 18시간 내지 30시간 사이에 유전자 조작, 형질전환, 또는 형질도입된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 자극의 개시 이후 (약) 18시간 내지 30시간 사이에 유전자 조작, 형질전환, 또는 형질도입된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 자극의 개시 이후 (약) 16시간, 18시간, 20시간, 22시간, 또는 24시간 후에 유전자 조작, 형질전환, 또는 형질도입된다.

- [0508] 특정 구현예에서, 유전자 조작 방법은 재조합 단백질, 예를 들어 재조합 수용체를 암호화하는 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오타이드와 집단의 하나 이상의 세포를 접촉시키거나 도입함으로써 수행된다. 특정 구현예에서, 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오타이드는 상기 세포에 대한 이중이다. 구체적인 구현예에서, 이중 핵산 분자 또는 이중 폴리뉴클레오타이드는 상기 세포에 대해 천연이 아니다. 특정 구현예에서, 이중 핵산 분자 또는 이중 폴리뉴클레오타이드는 상기 세포에 의해 천연으로 발현되지 않는 단백질(예를 들어, 재조합 단백질)을 암호화한다. 구체적인 구현예에서, 이중 핵산 분자 또는 이중 폴리뉴클레오타이드는 접촉 또는 도입 전에 세포에서 발견되지 않는 핵산 서열이거나 이를 함유한다.
- [0509] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 자극된 세포)는 형질도입 보조제의 존재 하에 조작(예를 들어, 형질도입)된다. 예시적인 형질도입 보조제는 다가 양이온, 피브로넥틴 또는 피브로넥틴 유래 단편 또는 변이체, 및 레트로넥틴을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 구현예에서, 세포는 다가 양이온, 피브로넥틴 또는 피브로넥틴 유래 단편 또는 변이체, 및 레트로넥틴의 존재 하에 조작된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 폴리브렌, DEAE-텍스트란, 프로타민 황산염, 폴리-L-리신 또는 양이온성 리포솜인 다가 양이온의 존재 하에 조작된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 프로타민 황산염의 존재 하에 조작된다. 일부 구현예에서, 예를 들어 섹션 II-C-2에 기술된 바와 같은, 올리고머성 자극 시약의 존재는 형질도입 보조제로 작용할 수 있으며, 예를 들어, 본원에 참조로 포함되는 문헌[W0/2017/068419]을 참조한다.
- [0510] 일부 구현예에서, 유전자 조작(예를 들어, 형질도입)은 무혈청 배지에서, 예를 들어, 본원에 또는 문헌[PCT/US2018/064627]에 기술된 바와 같이, 수행된다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 명확한 또는 아주 명확한 세포 배양 배지이다. 특정 구현예에서, 무혈청 배지는 억제제 및/또는 성장 인자를 제거하기 위해 처리된, 예를 들어 여과된, 조절된 배양 배지이다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 단백질을 함유한다. 특정 구현예에서, 무혈청 배지는 혈청 알부민, 가수 분해물, 성장 인자, 호르몬, 운반체 단백질, 및/또는 부착 인자를 함유할 수 있다.
- [0511] 구체적인 구현예에서, 세포는 하나 이상의 사이토카인의 존재 하에서 조작된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 재조합 사이토카인이다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 인간 재조합 사이토카인이다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 T 세포에 대해 내인성이고/거나 T 세포에 의해 발현되는 수용체에 결합하고/거나 결합할 수 있다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 사이토카인의 4-알파-나선 번들 패밀리의 멤버이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 사이토카인의 4-알파-나선 번들 패밀리의 멤버는 인터루킨-2(IL-2), 인터루킨-4(IL-4), 인터루킨-7(IL-7), 인터루킨-9(IL-9), 인터루킨 12(IL-12), 인터루킨15(IL-15), 과립구 집락 자극 인자(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), 및 과립구-대식세포 집락 자극 인자(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)를 포함하되 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 IL-15이거나 이를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 IL-7이거나 이를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 재조합 IL-2이거나 이를 포함한다.
- [0512] 구체적인 구현예에서, 세포, 예를 들어 자극된 세포가 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15의 존재 하에 자극 조건에서 조작된다. 특정 구현예에서, IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15는 재조합형이다. 특정 구현예에서, IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15는 인간형이다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 인간 재조합 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, 세포는 재조합 IL-2, IL-7, 및 IL-15, 예컨대 재조합 인간 IL-2 (예를 들어, 100 IU/mL), 재조합 인간 IL-7(예를 들어, 600 IU/mL), 및/또는 재조합 인간 IL-15(예를 들어, 100 IU/mL)의 존재 하에 자극 조건에서 조작(예를 들어, 형질도입)된다.
- [0513] 일부 구현예에서, 세포는 자극 동안 존재하는 것과 동일하거나 유사한 배지의 존재 하에 유전자 조작되거나, 형질전환되거나, 또는 형질도입된다. 일부 구현예에서, 세포는 자극 동안 존재하는 배지와 동일한 사이토카인을 가진 배지에서 유전자 조작되거나, 형질전환되거나, 또는 형질도입된다. 특정 구현예에서, 세포는 자극 동안 존재하는 배지와 동일한 농도의 동일한 사이토카인을 가진 배지에서 유전자 조작되거나, 형질전환되거나, 또는 형질도입된다.
- [0514] 일부 구현예에서, 세포를 유전자 조작하는 것은 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드)를 형질도입에 의해 세포 내로 도입하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 바이러스 벡터로 형질도입되거나 형질도입을 거친다. 구체적인 구현예에서, 세포는 바이러스 벡터로 형질도입되거나 형질도입을 거친다. 일부 구현예에서, 바이러스는 감마레트로바이러스 벡터 또는 렌티바이러스 벡터와 같은 레트로바이러스 벡터이다. 렌티바이러스 형질도입 방법은 알려져 있다. 예시적인 방법이 예를 들어, 문헌[Wang 등 (2012) J.

Immunother. 35(9): 689-701; Cooper 등 (2003) Blood. 101:1637-1644; Verhoeyen 등 (2009) Methods Mol Biol. 506: 97-114; 및 Cavalieri 등 (2003) Blood. 102(2): 497-505]에 기술되어 있다.

[0515] 일부 구현예에서, 형질도입은 재조합 단백질, 예를 들어 재조합 수용체를 암호화하는 핵산 분자와 집단의 하나 이상의 세포를 접촉시킴으로써 수행된다. 일부 구현예에서, 접촉은 회전 접촉(예를 들어, 원심분리 접촉)과 같은 원심분리로 달성될 수 있다. 이러한 방법은 문헌[국제 공개 번호 WO2016/073602]에 기술된 바와 같은 임의의 것을 포함한다. 예시적인 원심분리 챔버는 Biosafe SA에 의해 생산 및 판매되는 챔버를 포함하며, Sepax® 및 Sepax® 2 시스템과 함께 사용하기 위한 챔버를 포함하고, A-200/F 및 A-200 원심분리 챔버 및 상기 시스템과 함께 사용하기 위한 다양한 키트를 포함한다. 예시적인 챔버, 시스템 및 가공 기기 및 캐비닛은 예를 들어 문헌 [미국 특허 번호 6,123,655, 미국 특허 번호 6,733,433 및 미국 특허 출원 공개 번호 US 2008/0171951, 및 국제 특허 출원 공개 번호 WO 00/38762]에 기술되어 있고, 각각의 내용은 본원에 그 전체가 참조로 포함된다. 상기 시스템과 함께 사용하기 위한 예시적인 키트는 제품 이름 CS-430.1, CS-490.1, CS-600.1 또는 CS-900.2로 BioSafe SA에서 판매되는 일회용 키트를 포함하나 이에 한정되지는 않는다.

[0516] 구체적인 구현예에서, 자극 조건에서 자극을 거친(예를 들어, 배양된) 조성물의 (약) 또는 적어도 50×10^6 , 100×10^6 , 150×10^6 , 200×10^6 , 250×10^6 , 300×10^6 , 350×10^6 , 400×10^6 , 450×10^6 , 500×10^6 , 550×10^6 , 600×10^6 , 700×10^6 , 800×10^6 , 900×10^6 , 또는 $1,000 \times 10^6$ 개 세포의 양이 유전자 조작(예를 들어, 형질도입)을 거친다. 구체적인 구현예에서, 자극을 거친 후 형질도입을 거친 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포 둘 다를 포함하는 세포, 예를 들어 생존 T 세포의 총 수는 (약) 50×10^6 개 세포, (약) 100×10^6 개 세포, (약) 150×10^6 개 세포, (약) 200×10^6 개 세포, (약) 250×10^6 개 세포, (약) 300×10^6 개 세포, (약) 350×10^6 개 세포, (약) 400×10^6 개 세포, (약) 450×10^6 개 세포, (약) 500×10^6 개 세포, (약) 550×10^6 개 세포, (약) 600×10^6 개 세포, (약) 700×10^6 개 세포, (약) 800×10^6 개 세포, (약) 900×10^6 개 세포, 또는 (약) $1,000 \times 10^6$ 개 세포, 또는 전술한 임의의 수치 사이의 임의의 값이다. 구체적인 구현예에서, 최대 900×10^6 개 세포의 투입 집단이 자극을 거치고, 자극을 거친 세포 중 (약) 또는 최대 600×10^6 개 세포의 양이 유전자 조작(예를 들어, 형질도입)을 거친다. 구체적인 구현예에서, 유전자 조작(예를 들어, 형질도입)을 거친 세포 조성물은 생존 CD4+ T 세포 및 생존 CD8+ T 세포를 1:10 내지 10:1, 1:5 내지 5:1, 4:1 내지 1:4, 1:3 내지 3:1, 2:1 내지 1:2, 1.5:1 내지 1:1.5, 1.25:1 내지 1:1.25, 1.2:1 내지 1:1.2, 1.1:1 내지 1:1.1, 또는 약 1:1의 비로 포함하거나, 또는 1:1 생존 CD4+ T 세포 대 생존 CD8+ T 세포를 포함한다.

[0517] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 바이러스 벡터를 자극된 세포 집단의 (약) 300×10^6 개 또는 그 미만의 세포(예를 들어, 생존 T 세포) 내로 형질도입하는 것과 관련하여 사용된다. 특정 구현예에서, 자극된 세포 집단의 (약) 100×10^6 개 세포(예를 들어, 생존 T 세포)가 형질도입되거나 형질도입을 거친다.

[0518] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 바이러스 벡터를 자극된 세포 집단의 (약) 600×10^6 개 또는 그 미만의 세포(예를 들어, 생존 T 세포) 내로 형질도입하는 것과 관련하여 사용된다. 특정 구현예에서, 자극된 세포 집단의 (약) 600×10^6 개 세포(예를 들어, 생존 T 세포)가 형질도입되거나 형질도입을 거친다. 일부 구현예에서, 최대 900×10^6 개 세포(예를 들어, 생존 CD3+ 세포 또는 혼합된 생존 CD4+ 및 생존 CD8+ 세포(예를 들어, (약) 1:1의 비로 혼합됨))가 자극을 거치고, 자극을 거친 (약) 또는 최대 600×10^6 개 세포가 형질도입을 거친다.

[0519] 일부 구현예에서, 형질도입은 무혈청 배지에서 수행된다. 일부 구현예에서, 형질도입은 IL-2, IL-7, 및 IL-15의 존재 하에 수행된다. 일부 구현예에서, 형질도입을 위한 바이러스 벡터는 사용 전에 동결 및 해동되고, 해동된 바이러스 벡터는 무혈청 배지로 희석된다. 일부 구현예에서, 바이러스 벡터를 희석하기 위한 및 형질도입을 위한 무혈청 배지는 본원에 또는 문헌[PCT/US2018/064627]에 기술된 바와 같다.

[0520] 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 하나 이상의 보충물(supplement)이 보충된 기본 배지(예를 들어, OpTmizer™ T-세포 증폭 기본 배지(ThermoFisher))를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 보충물은 무혈청이다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 세포(예를 들어, T 세포)의 유지보수, 증폭, 및/또는 활성화를 위해, 예컨대 추가

보충물(예를 들어, OpTmizer™ T-세포 증폭 보충물(ThermoFisher))에 의해 제공된, 하나 이상의 추가 성분이 보충된 기본 배지를 포함한다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 혈청 대체물 보충물, 예를 들어, 면역 세포 혈청 대체물, 예를 들어 ThermoFisher #A2596101, CTS™ 면역 세포 혈청 대체물, 또는 문헌[Smith 등 *Clin Transl Immunology*. 2015 Jan; 4(1): e31]에 기술된 면역 세포 혈청 대체물을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 유리 형태(free form)의 아미노산, 예컨대 L-글루타민을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 L-글루타민의 다이펩타이드 형태(예를 들어, L-알라닌-L-글루타민), 예컨대 *Glutamax*™ (ThermoFisher)에서 다이펩타이드를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 하나 이상의 제조함 사이토카인, 예컨대 제조함 인간 IL-2, 제조함 인간 IL-7, 및/또는 제조함 인간 IL-15를 더 포함한다.

[0521] 구체적 구현예에서, 세포, 예를 들어 자극된 세포 집단의 세포는 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%의 세포인 CD4+ T 세포 또는 CD8+ T 세포를 함유한다. 일부 구현예에서, 형질도입 후 인큐베이션을 포함한 형질도입은 24 내지 48시간, 36 내지 12시간, 18 내지 30시간, 또는 (약) 24시간 동안 수행된다. 일부 구현예에서, 형질도입 후 인큐베이션을 포함한 형질도입은 각각 (약) 24시간, 48시간 또는 72시간 동안 또는 (약) 1일, 2일 또는 3일 동안 수행된다. 구체적 구현예에서, 형질도입 후 인큐베이션을 포함한 형질도입은 (약) 24시간 ± 6시간, 48시간 ± 6시간 또는 72시간 ± 6시간 동안 수행된다. 구체적 구현예에서, 형질도입 후 인큐베이션을 포함한 형질도입은 (약) 72시간, 72 ± 4시간 동안 또는 (약) 3일 동안 수행된다.

[0522] 특정 구현예에서, 형질도입 단계는 인큐베이션, 예를 들어 자극 조건에서 인큐베이션의 시작 또는 개시의 2일 이내, 36시간 이내, 30시간 이내, 24시간 이내, 18시간 이내, 16시간 이내, 14시간 이내, 또는 12시간 이내에 개시된다. 특정 구현예에서, 형질도입 단계는 인큐베이션, 예를 들어 자극 조건에서 인큐베이션의 시작 또는 개시의 약 20시간에 개시된다. 특정 구현예에서, 형질도입 단계는 인큐베이션, 예를 들어 자극 조건에서 인큐베이션의 시작 또는 개시의 20 ± 4시간에 개시된다.

[0523] 일부 구현예에서, 시스템은 시스템에서 수행되는 형질도입 단계 및 하나 이상의 다양한 다른 가공 단계, 예를 들어 본원 또는 문헌[국제 공개 번호 W02016/073602]에 기술된 바와 같은 원심분리 챔버 시스템으로 수행되거나 이와 관련하여 수행될 수 있는 하나 이상의 가공 단계의 측면을 작동, 자동화, 제어 및/또는 모니터링하기 위한 기기를 포함하여 다른 기기와 공동으로 포함되고/거나 이와 공동으로 배치된다. 일부 구현예에서 상기 기기는 캐비닛 내에 포함되어 있다. 일부 구현예에서, 상기 기기에는 제어 회로, 원심분리기, 커버, 모터, 펌프, 센서, 디스플레이 및 사용자 인터페이스를 수용한 하우징을 포함한 캐비닛이 포함된다. 예시적인 디바이스가 문헌[미국 특허 번호 6,123,655, 미국 특허 번호 6,733,433 및 US 2008/0171951]에 기술되어 있다.

[0524] 일부 구현예에서, 시스템은 일련의 용기, 예를 들어 백, 튜빙, 스톱콕, 클램프, 커넥터 및 원심분리 챔버를 포함한다. 일부 구현예에서, 백과 같은 용기는 동일한 백 또는 별도의 백과 같은 동일한 용기 또는 별도의 용기에 형질도입된 세포 및 바이러스 벡터 입자를 함유하는 백과 같은 하나 이상의 용기를 포함한다. 일부 구현예에서, 시스템은 챔버 내로 들어오는 회석제 및/또는 세척 용액 및/또는 방법 중에 성분 및/또는 집단을 회석, 재현탁 및/또는 세척하기 위한 기타 성분 같은 배지를 함유하는, 백 같은 하나 이상의 용기를 추가로 포함한다. 용기는 시스템의 하나 이상의 위치에, 예컨대 입력 라인, 회석 라인, 세척 라인, 폐기물 라인 및/또는 산출 라인에 대응하는 위치에 연결될 수 있다.

[0525] 일부 구현예에서, 챔버는 예컨대 회전축 주위로 챔버를 회전시킬 수 있는 원심분리기와 결합되어 있다. 회전은 세포의 형질도입과 관련하여 및/또는 다른 가공 단계 중 하나 이상에서 인큐베이션 이전, 도중 및/또는 이후에 이루어질 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 하나 이상의 다양한 가공 단계는 예를 들어, 특정 힘으로 회전되면서 수행된다. 챔버가 원심분리 중에 수직으로 위치하고 측벽과 축은 수직 또는 일반적으로 수직이며, 말단 벽은 수평 또는 일반적으로 수평이 되도록, 전형적으로 챔버는 수직 또는 일반적으로 수직 회전할 수 있다.

[0526] 일부 구현예에서, 세포를 함유하는 집단과 바이러스 벡터 입자를 함유하는 집단, 및 선택적으로 공기가 집단을 공동에 제공하기 전에 조합되거나 혼합될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포를 함유하는 집단과 바이러스 벡터 입자를 함유하는 집단, 및 선택적으로 공기가 개별적으로 제공되고 공동(cavity)에서 조합 및 혼합된다. 일부 구현예에서, 세포를 함유하는 집단과 바이러스 벡터 입자를 함유하는 집단, 및 선택적으로 공기가 임의의 순서로 내부 공동에 제공될 수 있다. 상기 임의의 일부 구현예에서, 세포 및 바이러스 벡터 입자를 함유하는 집단은, 이들이 원심분리 챔버 내부 또는 외부에서 조합 또는 혼합되든 및/또는 세포 및 바이러스 벡터 입자가 원심분리 챔버에 함께 또는 개별적으로, 예컨대 동시에 또는 순차적으로 제공되든, 함께 조합된 또는 혼합된 투입 집단이다.

[0527] 일부 구현예에서, 형질도입 방법에서 공기와 같은 일정 부피의 기체의 흡입이 세포 및 바이러스 벡터 입자의 인

큐베이전 전에 예컨대 회전 전에 일어난다. 일부 구현예에서, 형질도입 방법에서 공기와 같은 일정 부피의 기체의 흡입이 세포 및 바이러스 벡터 입자의 인큐베이션 동안에 예컨대 회전 동안에 일어난다.

[0528] 일부 구현예에서, 형질도입 집단을 구성하는 세포 또는 바이러스 벡터 입자의 액체 부피, 및 선택적으로 공기 부피는 미리 정해진 부피일 수 있다. 상기 부피는 시스템과 관련된 회로에 프로그램되고/거나 그 회로에 의해 제어되는 부피일 수 있다.

[0529] 일부 구현예에서, 형질도입 집단과, 선택적으로 공기 등의 기체의 흡입은 원하는 또는 미리 정해진 부피가 챔버의 내부 공동으로 들어갈 때까지 수동으로, 반자동으로 및/또는 자동으로 제어된다. 일부 구현예에서, 시스템과 관련된 센서는 원심분리 챔버에 흘러 들어가고 그로부터 나오는 액체 및/또는 기체를 예컨대 그 색상, 유속 및/또는 밀도를 통해 감지할 수 있고, 원하는 또는 미리 정해진 부피가 달성될 때까지 필요한 대로 흡입을 멈추거나 계속하도록 관련된 회로와 통신할 수 있다. 일부 측면에서, 시스템에서 기체(예를 들어, 공기)가 아닌 액체만 감지하도록 프로그램되거나 액체만 감지할 수 있는 센서는 시스템 내로 흡입을 멈추지 않고 기체(예컨대 공기)의 통과를 허용할 수 있도록 만들어질 수 있다. 일부 상기 구현예에서, 공기와 같은 기체 흡입이 필요한 동안 불투명 튜빙 조각을 센서 근처의 라인에 배치할 수 있다. 일부 구현예에서, 공기와 같은 기체의 흡입은 수동으로 제어될 수 있다.

[0530] 제공된 방법의 측면에서, 원심분리 챔버의 내부 공동은 고속 회전을 거친다. 일부 구현예에서, 회전은 액체 투입 집단과, 선택적으로 공기의 흡입 전에, 그와 동시에, 그 이후에 또는 간헐적으로 수행된다. 일부 구현예에서, 회전은 액체 투입 집단과, 선택적으로 공기의 흡입 이후에 수행된다. 일부 구현예에서, 회전은 내부 공동의 측면의 내부 표면에 및/또는 세포의 표면층에 (약) 또는 적어도 (약) 200g, 300g, 400g, 500g, 600g, 700g, 800g, 1000g, 1100g, 1500g, 1600g, 1800g, 2000g, 2200g, 2500g, 3000g, 3200g, 3500g 또는 4000g의 상대 원심력으로 원심분리 챔버의 원심분리에 의해 이루어진다. 일부 구현예에서, 회전은 약 1100g 이상, 예컨대 약 1200g 이상, 약 1400g 이상, 약 1600g 이상, 약 1800g 이상, 약 2000g 이상, 약 2400g 이상, 약 2800g 이상, 약 3000g 이상 또는 약 3200g 이상의 힘으로 원심분리에 의해 이루어진다. 구체적인 구현예에서, 원심분리에 의한 회전은 600g 내지 800g 사이의 힘으로 이루어진다. 구체적인 구현예에서, 원심분리에 의한 회전은 (약) 693g의 힘으로 이루어진다. 일부 구현예에서, 회전은 (약) 1600g의 힘으로 원심분리에 의해 이루어진다.

[0531] 일부 구현예에서, 챔버의 공동 내의 기체(예컨대 공기)가 챔버로부터 배출된다. 일부 구현예에서, 공기 등의 기체는 원심분리 챔버와 폐쇄 시스템의 일부로서 작동 가능하게 연결된 용기로 배출된다. 일부 구현예에서, 용기는 비어있거나 비어 있는 용기이다. 일부 구현예에서, 챔버의 공동 내의 공기 등의 기체는 멸균 배관 라인을 통해 챔버의 내부 공동에 작동 가능하게 연결된 필터를 통해 배출된다. 일부 구현예에서, 공기는 수동, 반자동 또는 자동 공정을 이용해 배출된다. 일부 구현예에서, 공기는, 형질도입이 개시되었거나 세포가 바이러스 벡터로 형질도입된 세포 등의 인큐베이션된 세포 및 바이러스 벡터 입자를 함유한 산출 집단을 챔버의 공동으로부터 발현하기 전에, 그와 동시에, 간헐적으로, 또는 그 이후에 챔버로부터 방출된다.

[0532] 일부 구현예에서, 형질도입 및/또는 다른 인큐베이션은 연속 또는 반-연속 공정으로서 또는 그 일부로서 수행된다. 일부 구현예에서, 연속 공정은 세포 및 바이러스 벡터 입자, 예를 들어, 형질도입 조성물(단일 기존 조성물로서 또는 동일한 용기 예를 들어 공동으로 연속적으로 끌어 넣음으로서, 그렇게 하여 그 부분을 혼합하여)의 연속 흡입 및/또는 인큐베이션의 적어도 일부 동안, 예를 들어 원심분리하는 동안, 용기로부터 액체의 연속 발현 또는 방출, 및 선택적으로 기체(예를 들어, 공기)의 방출을 포함한다. 일부 구현예에서, 연속 흡입 및 연속 발현은 적어도 부분적으로 동시에 수행된다. 일부 구현예에서, 연속 흡입은 인큐베이션의 일부 중, 예를 들어 원심분리의 일부 중 일어나고, 연속 발현은 인큐베이션의 별도 일부 중 일어난다. 상기 둘은 교대로 될 수 있다. 따라서, 인큐베이션을 수행하는 중에, 연속 흡입 및 발현은 가공(예를 들어, 형질도입)될 샘플의 전체 부피를 더 크게 할 수 있다.

[0533] 일부 구현예에서, 인큐베이션은 연속 공정의 일부이고, 상기 방법은 인큐베이션 중 적어도 일부 동안 상기 형질도입 조성물을 공동 내로 챔버의 회전 동안 연속 흡입되게 하는 것, 및 인큐베이션의 일부 동안, 챔버의 회전 동안 적어도 하나의 개구를 통해 공동으로부터 액체의 연속 발현이 되게 하는 것, 그리고 선택적으로 기체(예를 들어, 공기)를 방출하는 것을 포함한다.

[0534] 일부 구현예에서, 반-연속 인큐베이션은 조성물을 공동 내로 흡입, 인큐베이션, 공동으로부터 예컨대 출력 용기로 액체의 발현, 및 선택적으로 공동으로부터 기체(예를 들어, 공기)의 방출 사이를 번갈아 하고, 그런 후 가공을 위한 추가적인 세포 및 다른 시약, 예를 들어 바이러스 벡터 입자를 함유한 후속(예를 들어, 제2, 제3 등) 조성물의 흡입 및 공정을 반복하여 수행된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 인큐베이션은 반-연속 공정의 일부

이고, 상기 방법은 인큐베이션 전에 형질도입 조성물을 상기 적어도 하나의 개구를 통해 공동 내로 흡입을 실행하고, 인큐베이션 후에, 공동으로부터 유체의 발현을 실행하는 단계; 세포 및 바이러스 벡터 입자를 포함한 다른 형질도입 조성물을 상기 내부 공동 내로 흡입을 실행하는 단계; 및 상기 다른 형질도입 조성물 내 상기 세포가 상기 벡터로 형질도입되거나 형질도입을 거치는 조건에서 상기 내부 공동에서 상기 다른 형질도입 조성물을 인큐베이션하는 단계를 포함한다. 상기 공정은 다수의 추가 라운드 동안 반복적인 방식으로 계속될 수 있다. 이와 관련하여, 반연속 또는 연속 방법은 훨씬 더 큰 부피 및/또는 수의 세포를 생산할 수 있다.

[0535] 일부 구현예에서, 형질도입 인큐베이션의 일부는 원심분리 챔버에서 수행되고, 이는 회전 또는 원심분리를 포함하는 조건에서 수행된다.

[0536] 구체적인 구현예에서, 바이러스 벡터를 이용한 세포의 형질도입은 세포 및 바이러스 입자를 함유하는 혼합물의 회전 집중, 예를 들어 원심분리이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포 및 바이러스 입자를 함유하는 조성물을 일반적으로 상대적으로 작은 힘 또는 저속으로, 예컨대 세포를 펄트화하기 위해 사용되는 것보다 더 낮은 속도, 예컨대 (약) 600rpm 내지 1700rpm(예를 들어 (약) 또는 적어도 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 이상)으로 회전시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 회전은 예를 들어 챔버 또는 공동의 내벽 또는 외벽에서 측정했을 때, (약) 100g 내지 4000g(예를 들어 (약) 또는 적어도 100g, 200g, 300g, 400g, 500g, 600g, 700g, 800g, 900g, 1000g, 1500g, 2000g, 2500g, 3000g 또는 3500g)의 힘, 예를 들어, 상대 원심력으로 수행된다.

[0537] 일부 구현예에서, 세포는 바이러스 벡터로 (약) 100g 내지 4000g, 200g 내지 1,000g, 500g 내지 1200g, 1000g 내지 2000g, 600g 내지 800g, 1200g 내지 1800g, 또는 1500g 내지 1800g의 힘, 예를 들어 상대 원심력으로 회전 집중된다. 특정 구현예에서, 세포는 바이러스 벡터 입자로 (약) 또는 적어도 100g, 200g, 300g, 400g, 500g, 600g, 700g, 800g, 900g, 1000g, 1200g, 1500g, 1600g, 2000g, 2500g, 3000g, 3200g, 또는 3500g 동안 회전 집중된다. 일부 구현예에서, 세포는 바이러스 벡터로 (약) 692g 또는 693g의 힘으로 형질도입되거나 형질도입을 거친다. 구체적인 구현예에서, 세포는 바이러스 벡터로 (약) 1600g의 힘으로 형질도입되거나 형질도입을 거친다. 일부 구현예에서, 상기 힘은 내부 공동의 측벽의 내부 표면 및/또는 세포의 표면층에서의 힘이다.

[0538] 특정 구현예에서, 세포가 회전 집중되며, 예를 들어 세포 및 바이러스 벡터를 함유하는 세포 조성물이 약 5분 이상, 예컨대 약 10분 이상, 약 15분 이상, 약 20분 이상, 약 30분 이상, 약 45분 이상, 약 60분 이상, 약 90분 이상 또는 약 120분 이상; 또는 (약) 5분 내지 120분, 30분 내지 90분, 15분 내지 60분, 15분 내지 45분, 30분 내지 60분 또는 45분 내지 60분 동안(각 수치 포함) 회전된다. 일부 구현예에서, 세포는 바이러스 벡터로 (약) 30분 동안 회전 집중된다. 특정 구현예에서, 세포는 바이러스 벡터로 (약) 60분 동안 회전 집중된다.

[0539] 일부 구현예에서, 형질도입 방법은 원심분리 챔버에서 약 5분 이상, 예컨대 약 10분 이상, 약 15분 이상, 약 20분 이상, 약 30분 이상, 약 45분 이상, 약 60분 이상, 약 90분 이상 또는 약 120분 이상 동안 형질도입 조성물과 선택적으로 공기의 회전 집중, 예를 들어, 회전 또는 원심분리를 포함한다. 일부 구현예에서, 형질도입 조성물과, 선택적으로 공기는 원심분리 챔버에서 5분을 넘는 시간 동안 그러나 60분 이내, 45분 이내, 30분 이내 또는 15분 이내 동안 회전 또는 원심분리된다. 구체적인 구현예에서, 형질도입은 (약) 60분 동안 회전 또는 원심분리를 포함한다.

[0540] 일부 구현예에서, 형질도입 방법은 원심분리 챔버에서 (약) 10분 내지 60분, 15분 내지 60분, 15분 내지 45분, 30분 내지 60분 또는 45분 내지 60분(각 수치 포함) 동안, 내부 공동의 측벽의 내부 표면 및/또는 세포의 표면층에 적어도 (약) 1000g, 1100g, 1200g, 1400g, 1500g, 1600g, 1800g, 2000g, 2200g, 2400g, 2800g, 3200g 또는 3600g의 힘으로, 형질도입 조성물과, 선택적으로 공기의 회전 또는 원심분리를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 형질도입 방법은 (약) 1600g으로 (약) 60분 동안 형질도입 조성물(예를 들어, 세포 및 바이러스 벡터 입자)의 회전 또는 원심분리를 포함한다.

[0541] 4. 벡터 카피수(Vector Copy Number, VCN)

[0542] 일부 구현예에서, 세포를 조작하기 위한 제공된 공정들 중 임의의 공정과 관련하여 생성된 세포에서 전이 유전자 서열, 예컨대 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 암호화하는 전이 유전자 서열의 게놈 통합이 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 통합된 카피수가 평가되며, 이는 세포의 염색체 DNA 또는 게놈 DNA에 통합된 전이 유전자 서열의 카피수이다.

[0543] 일부 구현예에서, 전이 유전자 서열의 유전체 통합을 평가하는 방법은 하나 이상의 세포로부터 단리된 DNA로부터 (약) 10 킬로베이스(kb)보다 큰 DNA 종과 같은 디옥시리보핵산(DNA)의 고분자량 분획을 분리하는 단계를 수

반한다. 일부 측면에서, 상기 분리는 펄스 필드 겔 전기영동(PFGE) 등의 방법으로 수행될 수 있다. 일부 측면에서, 하나 이상의 세포는 재조합 단백질을 암호화하는 전이 유전자 서열을 포함하는 적어도 하나의 조작된 세포를 함유하거나 함유하는 것으로 의심된다. 일부 측면에서, 상기 방법은 예를 들어 정량적 중합효소연쇄반응(qPCR), 디지털 PCR(dPCR) 또는 액적 디지털 PCR(ddPCR)과 같은 정량적 방법으로, 하나 이상의 세포의 게놈에 통합된 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아내는 단계를 수반한다.

[0544] 일부 구현예에서, 고분자량 분획은 일차적으로 염색체 또는 게놈 DNA와 같은 큰 DNA를 함유하고, 플라스미드, 통합되지 않은 DNA 단편, 선형 상보적 DNA(cDNA), 자가통합체(autointegrant), 긴 말단 반복(LTR) 서클 또는 게놈에 통합되지 않은 기타 잔류 중 또는 분자와 같이 크기가 임계값보다 작은 저분자를 함유하거나 분자를 거의 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 고분자량 분획 내 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아냄으로써, 검출된 전이 유전자 서열은 조작된 세포의 게놈에 통합된 것을 나타내고, 통합되지 않은 전이 유전자 서열의 검출을 최소화한다.

[0545] 일부 구현예에서, 고분자량 분획은 크기가 (약) 10 킬로베이스(kb)보다 큰 DNA 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 고분자량 분획은 크기가 (약) 10, 11, 12, 12.5, 13, 14, 15, 16, 17, 17.5, 18, 19, 20, 25 또는 30 킬로베이스(kb) 또는 그 이상보다 큰 DNA 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 고분자량 분획은 크기가 약 10, 12.5, 15, 17.5 또는 20 킬로베이스(kb) 또는 그 이상보다 큰 DNA 분자를 포함한다. 일부 측면에서, 고분자량 분획은 게놈 DNA 또는 게놈 DNA 단편을 함유하고, DNA 샘플에 존재할 수 있는 통합되지 않은 또는 잔류 핵산 종을 배제하거나 분리한다. 일부 측면에서, 고분자량 분획, 예를 들어, DNA 샘플은 크기가 약 10, 11, 12, 12.5, 13, 14, 15, 16, 17, 17.5, 18, 19, 20, 25 또는 30 킬로베이스(kb) 또는 그 이상과 같은 임계값 위이다. 일부 구현예에서, 임계값은 (약) 10, 12.5, 15, 17.5 또는 20 킬로베이스(kb) 또는 그 이상보다 크다.

[0546] 일부 구현예에서, 고분자량 분획은 전기영동-기반 방법을 사용하여 분리 또는 단리된다. 일부 측면에서, 전기영동은 전기장의 존재 하에 분리 매트릭스를 통한 이동성을 통해 전하 및/또는 크기에 의해 생체분자를 분리한다. 일부 구현예에서, 전기영동 시스템은 크기 또는 분자량에 기초하여 핵산 분자를 포함하여 특정 피분석물을 분획, 분석 및 채집하는 데 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 분획은 복수의 분자의 서브세트이거나 이를 포함한다. 일부 측면에서, 분획(fraction, 또는 분율)은 크기 또는 분자량에 의해, 또는 일부 측면에서, 전기장의 힘에 의한 분개시 내용의 완충제 조성물을 통과해 이동하도록(즉, 전기영동 이동성) 구동될 때 다른 분자 또는 복수의 분획보다 더 빠르거나 느린 속도로 이동하게 하는 임의의 물리적 특성에 의해 정의 또는 확인될 수 있다.

[0547] 일부 구현예에서, 고분자량 분획은 펄스 필드 겔 전기영동(PFGE)을 사용하여 분리 또는 단리된다. 일부 측면에서, PFGE는 염색체 또는 게놈 DNA 같은 상대적으로 큰 핵산 분자의 분해능을 개선하기 위해 전기영동 시스템에 교류 전압 구배를 도입하는 것을 수반한다. 일부 측면에서, 전기영동 시스템의 전압은 세 방향 사이에서 주기적으로 전환되는데, 하나는 겔의 중심 축을 통과하여 흐르고 둘은 양쪽에서 60도 각도로 흐른다. 일부 측면에서, PFGE에 의해 핵산 분자를 분리 또는 단리하는 예시적인 시스템 및 방법은 예를 들어, 문헌[US 9599590; US 2017/0240882; 또는 US 2017/0254774]에 기술된 것을 포함한다.

[0548] 일부 측면에서, PFGE 등의 전기영동은 장치 또는 시스템을 사용하여 수행될 수 있다. 일부 측면에서, 상기 장치 또는 시스템은 자동화 시스템 또는 고처리량 시스템이다. PFGE를 수행하기 위한 예시적인 시스템으로는, 예를 들어, 문헌[US 9599590; US 2017/0240882; 또는 US 2017/0254774]에 기술된 것, 또는 Pippin Prep, Blue Pippin 또는 Pippin HT (Sage Science); CHEF Mapper® XA System, CHEF-DR® III Variable Angle System, CHEF-DR II System (Bio-Rad); 및 Biometra Rotaphor 8 System (Analytik Jena AG) 등을 들 수 있다.

[0549] 일부 측면에서, 평가를 위한 예시적인 샘플로는 핵산, 올리고뉴클레오타이드, DNA 분자, RNA 분자 또는 이들의 임의의 조합이 포함된다. 일부 측면에서, 상기 샘플에는 아미노산, 펩타이드, 단백질 또는 이들의 임의의 조합이 포함될 수 있다. 일부 측면에서, 상기 샘플은 전체 세포 용해물, 또는 세포 용해물의 DNA 또는 단백질 분획, 예컨대 입양 세포 요법을 위해 조작된 세포의 용해물일 수 있다.

[0550] 일부 구현예에서, 샘플의 핵산은 게놈 DNA, 이중 가닥 DNA(dsDNA), 단일 가닥 DNA(ssDNA), 부호화 DNA(또는 cDNA), 메신저 RNA(mRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 마이크로RNA(miRNA), 단일 가닥 RNA, 이중 가닥 RNA(dsRNA), 모르폴리노, RNA 간섭(RNAi) 분자, 미토콘드리아 핵산, 염색체 핵산, 바이러스 DNA, 바이러스 RNA, 및 별도의 유전 물질을 가진 다른 세포기관을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 샘플의 핵산은 또한 변형된, 합성 또는 비자연 발생 뉴클레오타이드 또는 구조 요소 또는 이노신, 삼입체(미국 특허 번호 4,835,263) 및 작은 홈 바인더(minor groove binder, 미국 특허 번호 5,801,115) 등의 염기 유사물과 같은 다

른 대안적인/변형된 핵산 화학적 성질을 함유하는 핵산 유사물을 포함할 수 있다.

- [0551] 일부 구현예에서, 고분자량 분획 또는 저분자량 분획을 분리 또는 분리하기 전에, 샘플은 전기영동 시스템에서 평가 전에 순 음전하를 주거나, 펩타이드 또는 단백질을 변성시키거나, DNA나 RNA 분자를 소화시키는 시약과 결합할 수 있다. 일부 측면에서, 샘플은 검출 목적으로 샘플 또는 그 분획에 형광, 자성 또는 방사성 특성을 주는 제제(agents)와 결합될 수 있다. 일부 예에서, dsDNA 샘플이 브롬화 에티듐과 혼합되어 전기영동 카세트에 적용되며, 이 샘플의 분획은 아주 밝은 녹색 LED를 사용하여 검출된다.
- [0552] 일부 측면에서, 전기영동 시스템과 같이 핵산 샘플을 분리 또는 분리하기 위한 시스템은 자동화되거나 및/또는 고처리량일 수 있다. 일부 측면에서, 전기영동 시스템은 전기영동 카세트와 같이 일회용의 소모품 또는 시약을 이용할 수 있다.
- [0553] 일부 측면에서, 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아내는 단계는 핵산 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아내는 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 구체적으로, 정량적 중합효소연쇄반응(qPCR) 또는 관련 방법과 같은 핵산 서열을 정량화하는 데 사용되는 방법은 DNA를 함유하는 샘플로부터 분리 또는 분리된, DNA를 함유하는 샘플 내 또는 고분자량 분획과 같은 특정 분획 내 전이 유전자 서열의 카피수를 알아내는 데 채용될 수 있다. 일부 구현예에서, 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아내는 단계는 예를 들어 핵산 분자를 정량화하기 위해 아래 예시적인 분석법 중 어느 하나를 사용하여 카피수를 알아내는 단계를 포함한다.
- [0554] 일부 측면에서, 특정 서열의 존재, 부재 및/또는 양은 전이 유전자 서열의 전부 또는 일부에 특이적으로 결합하거나 이를 인식할 수 있는 프로브 또는 프라이머를 사용하여 검출할 수 있다. 일부 구현예에서, 카피수는 전이 유전자 서열의 일부를 특이적으로 검출할 수 있는 프로브 또는 전이 유전자 서열의 일부를 특이적으로 증폭할 수 있는 프라이머 서열을 사용하여 알아낼 수 있다. 일부 측면에서, 상기 프로브 또는 프라이머 서열은 세포에 대해 이중성, 외인성 또는 전이 유전자를 가지는 전이 유전자 서열의 일부와 같은 전이 유전자 서열의 일부를 특이적으로 검출, 결합 또는 인식할 수 있다. 일부 구현예에서, qPCR 또는 다른 핵산 기반 방법에 사용되는 프라이머 또는 프로브는 재조합 단백질을 암호화하는 핵산, 및/또는 예를 들어 프로모터, 전사 및/또는 전사 후 조절 요소 또는 반응 요소, 또는 표지자(예를 들어, 대리 표지자) 등의 조절 요소를 포함한 플라스미드 및/또는 벡터의 기타 성분 또는 요소를 결합, 인식 및/또는 증폭하는 데 특이적이다. 일부 측면에서, 프로브 또는 프라이머는 정량적 PCR(qPCR), 디지털 PCR(dPCR) 또는 액적 디지털 PCR(ddPCR)과 같은, 전이 유전자 서열의 존재, 부재 및/또는 양을 알아내는 예시적인 방법에 사용될 수 있다.
- [0555] 일부 측면에서, 존재, 부재 또는 양을 알아내는 단계는 하나 이상의 세포 내에서 또는 하나 이상의 세포를 함유하는 생물학적 샘플 내에서 전이 유전자 서열의 질량, 중량, 농도 또는 카피수를 알아내는 것과 같은 전이 유전자 서열의 양을 알아내는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 핵산 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아내는 단계 또는 전이 유전자 서열의 질량, 중량, 농도 또는 카피수를 평가하는 단계는 세포의 집단의 일부 또는 생물학적 샘플의 일부에서 수행될 수 있으며, 전체 샘플 또는 전체 세포의 집단에서 존재, 부재 또는 양을 알아내기 위해 정규화하고, 평균을 내고 및/또는 추정할 수 있다.
- [0556] 일부 구현예에서, 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아내는 단계는 하나 이상의 세포 내에서 2배체 계통 당 또는 세포 당 전이 유전자 서열의 질량, 중량, 농도 또는 카피수를 알아내는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 세포는 세포의 집단을 포함하고, 여기서 상기 집단의 복수의 세포는 재조합 단백질을 암호화하는 전이 유전자 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 카피수는 세포의 집단 중에서 2배체 계통 당 또는 세포 당 평균 카피수이다.
- [0557] 일부 측면에서, 카피수를 알아내는 단계는 하나 이상의 세포 내 또는 생물학적 샘플 내 존재하는 전이 유전자 서열의 카피 수를 알아내는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 카피수는 평균 카피수로 표현될 수 있다. 일부 측면에서, 특정 통합된 전이 유전자의 카피수는 세포 당 (전이 유전자 서열을 함유하는) 구성 부분의 수를 포함한다. 일부 측면에서, 특정 통합된 전이 유전자의 카피수는 2배체 계통 당 (전이 유전자 서열을 함유하는) 구성 부분의 수를 포함한다. 일부 측면에서, 전이 유전자 서열의 카피수는 세포 당 통합된 전이 유전자 서열의 수로 표현된다. 일부 측면에서, 전이 유전자 서열의 카피수는 2배체 계통 당 통합된 전이 유전자 서열의 수로 표현된다. 일부 측면에서, 하나 이상의 세포는 세포의 집단을 포함하고, 여기서 상기 집단의 복수의 세포는 재조합 단백질을 암호화하는 전이 유전자 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 카피수는 세포의 집단 중에서 2배체 계통 당 또는 세포 당 평균 카피수이다.
- [0558] 일부 구현예에서, 전이 유전자 서열의 양을 알아내는 단계는 하나 이상의 세포 당, 선택적으로 CD3+, CD4+ 및/

또는 CD8+ 세포 당, 및/또는 재조합 단백질을 발현하는 세포 당 전이 유전자 서열의 질량, 중량, 농도 또는 카피수를 평가하는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 세포상에 발현되는 표면 표지자 또는 표현형은 유세포 분석 또는 면역 염색법에 의한 것과 같은 세포 기반 방법을 사용하여 알아낼 수 있다. 일부 측면에서, 재조합 단백질을 발현하는 세포는 유세포 분석 또는 예를 들어 항-이디오타입 항체 또는 대리 표지자 염색을 이용한 면역 염색법에 의한 것과 같은 세포 기반 방법을 사용하여 알아낼 수 있다. 일부 측면에서, 전이 유전자 서열의 양은 CD3+, CD4+ 및/또는 CD8+ 세포와 같은 특정 세포의 수로, 및/또는 재조합 단백질을 발현하는 세포 당으로, 또는 세포의 총 수 당으로, 예컨대 샘플 내 세포의 총 수 당으로 또는 조작 공정을 거친 세포의 총 수 당으로 정규화할 수 있다.

[0559] 일부 구현예에서, 알아낸 카피수는 정규화된 값으로 표현된다. 일부 구현예에서, 알아낸 카피수는 계놈 당 또는 세포 당 전이 유전자 서열의 카피 수로 정량화된다. 일부 측면에서, 계놈 당 값은, T 세포와 같은 통상적인 체 세포가 2배체 계놈을 함유하므로, 2배체 계놈 당 전이 유전자 서열의 카피(copy)로 표현된다. 일부 측면에서, 알아낸 카피수는 세포의 계놈 내 알려진 기준 유전자의 카피수에 대해 정규화할 수 있다. 일부 측면에서, 기준 유전자는 RRP30(리보뉴클레아제 P 단백질 서브유닛 p30을 암호화), 18S rRNA(18S 리보솜 RNA), 28S rRNA(28S 리보솜 RNA), TUBA(α -튜불린), ACTB(β -액틴), β 2M(β 2-마이크로글로불린), ALB(알부민), RPL32(리보솜 단백질 L32), TBP(TATA 서열 결합 단백질), CYCC(시클로필린 C), EF1A(신장 인자 1 α), GAPDH(글리세르알데하이드-3-인산 탈수소효소), HPRT(히포크산틴 포스포리보실 전달효소) 또는 RPII(RNA 중합효소 II)이다. 일부 구현예에서, 알아낸 카피수는 DNA의 마이크로그램 당 전이 유전자 서열의 카피(copy)로 정량화된다.

[0560] 일부 측면에서, 카피수는 복수의 세포 또는 세포의 집단, 예컨대 복수의 조작된 세포 또는 조작된 세포의 집단의 평균 또는 중간 카피수이다. 일부 측면에서, 카피수는 복수의 세포 또는 세포의 집단, 예컨대 복수의 조작된 세포 또는 조작된 세포의 집단의 평균 카피수이다. 일부 측면에서, 평균 카피수는 복수의 세포 또는 세포의 집단, 예컨대 조작 또는 제조 공정의 하나 이상의 단계를 거친 복수의 세포 또는 세포의 집단으로부터, 또는 대상체에 투여하기 위한 세포 조성물과 같은 세포 조성물로부터 알아낸다. 일부 측면에서, 정규화된 평균 카피수는 예를 들어 2배체 계놈 내 2개 카피에 존재하는 알려진 유전자와 같은 기준 유전자에 대해 정규화된 전이 유전자 서열의 평균 카피수로 결정된다. 일부 측면에서, 통상적으로 2배체 계놈 당 2개 카피에 존재하는 기준 유전자에 대한 정규화는 2배체 세포와 같은 세포 내 카피수에 해당할 수 있다. 따라서, 일부 측면에서, 정규화된 평균 카피수는 복수의 세포 또는 세포의 집단, 예를 들어, 통상적으로 2배체 계놈을 가진 T 세포들 중에서 검출된 전이 유전자 서열의 평균 카피수에 해당할 수 있다.

[0561] 일부 구현예에서, 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아내는 단계는 중합효소연쇄반응(PCR)에 의해 수행된다. 일부 구현예에서, PCR은 아래 기술되는 바와 같은 정량적 중합효소연쇄반응(qPCR), 디지털 PCR 또는 액적 디지털 PCR이다. 일부 구현예에서, 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양은 액적 디지털 PCR에 의해 알아낸다. 일부 구현예에서, PCR은 전이 유전자 서열의 적어도 일부에 상보적이거나 적어도 일부에 특이적으로 증폭할 수 있는 하나 이상의 프라이머를 사용하여, 일부 경우에, 기준 유전자의 적어도 일부에 상보적이거나 적어도 일부를 특이적으로 증폭할 수 있는 하나 이상의 프라이머를 사용하여 수행된다.

[0562] 일부 측면에서, qPCR은 반응이 진행됨에 따라 측정된 증폭 생성물의 축적을 각 주기 후 생성물 정량화와 함께 실시간으로 검출하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 일부 측면에서, qPCR은 샘플 내 전이 유전자 서열과 같은 특정 핵산 서열의 카피수를 알아내는 데 사용할 수 있다. 일부 측면에서, qPCR은 각 반응 웰(well)에서 증가하는 생성물 DNA의 양과 함께 증가하는 형광을 산출하는 형광성 리포터 분자를 채용한다. 일부 측면에서, 채용된 형광의 화학적 성질은 DNA-결합 염료 및 형광 표지된 서열-특이적 프라이머 또는 프로브를 포함한다. 일부 측면에서, qPCR은 지정된 과정에서 각 샘플을 조명하고 여기된 형광단에 의해 방출된 형광을 검출하는 능력을 가진 특수 열 순환기를 채용한다. 일부 측면에서, 측정된 형광은 앰플리콘의 총량에 비례하고, 시간에 따른 형광의 변화는 각 주기에 생산된 앰플리콘의 양을 계산하는 데 사용된다.

[0563] 일부 구현예에서, dPCR은 핵산을 검출하고 증폭하기 위한 방법이며, 표적 핵산 분자의 정확한 정량적 분석 및 높은 감도의 검출을 가능하게 한다. 일부 측면에서, dPCR은 연속적인 개별 PCR 반응(또는 분할)으로 DNA를 한계 희석하는 것을 수반한다. 일부 측면에서, 한계 희석은 평가할 주형 핵산, 예를 들어, 전이 유전자 서열의 무작위 분포에 기초하여 나노유체역학과 에멀션의 화학적 성질을 이용한 분할의 원칙과, 주어진 비율의 양성(positive) 분할에 대해 존재하는 DNA의 양(quantity)을 측정하기 위한 푸아송 통계를 채용할 수 있다. 일부 측면에서, dPCR은 일반적으로 선형이고 민감하여, 매우 적은 양의 DNA를 검출 또는 정량화할 수 있다. 일부 측면에서, dPCR은 표준 곡선 없이 단일 분자 계수법을 사용하여 DNA 샘플의 절대적 정량화를 가능하게 하며, 절대적 정량화는 웰(well) 당 단일 분할에 대한 PCR로부터 얻을 수 있다(문헌[Pohl 등, (2004) Expert Rev. Mol.

Diagn. 4(1), 41-47] 참조).

[0564] dPCR을 위한 상업적으로 이용 가능한 예시적인 장치 또는 시스템으로는 Raindrop™ 디지털 PCR 시스템(Raindance™ Technologies); QX200™ Droplet Digital™ PCR 시스템(Bio-Rad); BioMark™ HD 시스템 및 qdPCR 37K™ IFC(Fluidigm Corporation) 및 QuantStudio™ 3D 디지털 PCR 시스템(Life Technologies™)(예를 들어, 문헌[Huggett 등 (2013) Clinical Chemistry 59: 1691-1693; Shuga, 등 (2013) Nucleic Acids Research 41(16): e159; Whale 등 (2013) PLoS One 3: e58177] 참조) 등을 들 수 있다.

[0565] 일부 구현예에서, 조작된 세포의 계놈 내로 통합하기 위한, 재조합 단백질을 암호화하는 전이 유전자 서열과 같은 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양은 액적 디지털 중합효소연쇄반응(ddPCR)을 사용하여 알아낸다. ddPCR은 디지털 PCR의 한 유형이며, 여기서 PCR 용액을 물-오일 에멀션 화학적 성질을 통해 더 작은 반응들로 나누거나 분할하여 수많은 액적을 생성한다. 일부 측면에서, 특정 계면활성제를 사용하여 유중수(water-in-oil)형 액적을 생성할 수 있다. (예를 들어, 문헌[Hindson 등, (2011) Anal Chem 83(22): 8604-8610; Pinheiro 등, (2012) Anal Chem 84, 1003-1011] 참조). 일부 측면에서, 각 개별 액적은 이후 개별 반응으로 실행된다. 일부 측면에서, PCR 샘플을 나노리터 크기 샘플로 분할하여 오일 액적으로 캡슐화한다. 일부 측면에서, 오일 액적은 웰들 각각에 진공을 가하는 액적 발생기를 사용하여 만들어진다. 예시적인 경우에, 20 µL 샘플 용량으로 개별 반응을 위한 대략 20,000개의 오일 액적을 만들 수 있다.

[0566] 일부 측면에서, 통합된 카피수를 평가하는 방법은 전이 유전자 서열이 도입된 세포의 계놈 내로 도입된 전이 유전자 서열의 통합과 같이 유전자 조작의 타이밍, 정도 또는 진행을 결정 및 비교하기 위해 여러 시점에서 수행될 수 있다. 일부 측면에서, 상기 방법은 조작된 세포 조성물을 위한 조작 또는 제조 공정, 예컨대 기술된 임의의 공정의 여러 단계에서 수행될 수 있다. 예를 들어, 제공된 방법은 증폭 조작 공정 또는 비증폭 조작 공정의 여러 단계에서 수행될 수 있다.

[0567] 일부 측면에서, 제공된 방법에 의해 조작된 세포는 상기 기술된 벡터 카피수에 대한 분석법들을 사용하여 예컨대 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 암호화하는 전이 유전자 서열의 계놈 통합에 대해 평가된다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 세포로부터 단리된 디옥시리보핵산(DNA)으로부터 (약) 10 킬로베이스(kb)보다 큰 고분자량 분획을 분리하는 단계—여기서 상기 분리하는 단계 전에, 세포는 세포의 계놈 내로 전이 유전자 서열을 통합하기 위한 조건에서, 예컨대 바이러스 형질도입에 의해, 전이 유전자 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 도입됨—; 및 고분자량 분획에서 전이 유전자 서열의 존재, 부재 또는 양을 알아내는 단계를 포함한다.

[0568] 5. 인큐베이션

[0569] 일부 구현예에서, 예를 들어 제공된 임의의 방법, 용도, 제조품 또는 조성물에 따른 세포 요법을 위해, 조작된 세포를 생성하는 방법은 증식 및/또는 증폭을 촉진하지 않는 조건에서 세포를 인큐베이션하는 하나 이상의 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 유전자 조작 단계 이후에, 예를 들어 형질도입 또는 형질주입에 의해 재조합 폴리펩타이드를 세포에 도입하는 단계 이후에 증식 및/또는 증폭을 촉진하지 않는 조건에서 인큐베이션된다. 구체적인 구현예에서, 세포가 자극 조건에서 인큐베이션되고 재조합 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 형질도입되거나 형질주입된 후, 세포가 인큐베이션된다. 따라서, 일부 구현예에서, CAR을 암호화하는 재조합 폴리뉴클레오타이드로 형질도입 또는 형질주입에 의해 조작된 CAR-양성 T 세포의 조성물이 증식 및/또는 증폭을 촉진하지 않는 조건에서 인큐베이션된다.

[0570] 구체적인 구현예에서, 예컨대 바이러스 벡터로 세포를 형질전환(예를 들어, 형질도입)하는 것에 의한 유전자 조작은 바이러스 벡터로 세포에 도입 또는 접촉 후에 세포를 인큐베이션하는 하나 이상의 단계를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어, 형질전환된 세포 집단의 세포(“형질전환된 세포”로도 불림)는 바이러스 벡터를 세포 내로 도입하기 위해 세포를 유전자 조작, 형질전환, 형질도입, 또는 형질주입하는 공정들 이후에 인큐베이션된다. 구체적인 구현예에서, 상기 인큐베이션은 인큐베이션된 세포의 집단(본원에서 인큐베이션된 세포 집단으로도 지칭됨)을 생성한다.

[0571] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 바이러스 벡터 입자)의 도입이 수행된 후 세포의 추가 가공 없이 인큐베이션된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션하기 전에, 세포는 예컨대 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 바이러스 벡터 입자)를 암호화하는 외인성 또는 남은 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 회전 접종 이후 유전자 조작 후에 배지에 남은 것을 제거 또는 실질적으로 제거하기 위해, 세척된다.

[0572] 일부 상기 구현예에서, 추가 인큐베이션이 바이러스 벡터가 하나 이상의 세포의 숙주 계놈으로 통합되는 조건에

서 수행된다. 예를 들면, 추가 인큐베이션은 형질도입(예를 들어, 회전 접종) 이후 T 세포에 결합했을 수 있는 바이러스 벡터가 관심 유전자를 전달하기 위해 세포의 계놈 내에 통합될 시간을 제공한다. 일부 측면에서, 추가 인큐베이션은 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)가 휴지하거나 회복되어 인큐베이션 동안 세포의 배양이 세포의 건강을 지원하거나 유지할 수 있도록 하는 조건에서 수행된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 정적 조건, 예컨대 배지의 원심분리, 흔들기, 회전, 요동, 또는 관류, 예를 들어 연속 또는 반연속 관류를 수반하지 않는 조건에서 인큐베이션된다.

[0573] 인큐베이션으로 인해 바이러스 벡터 입자가 숙주 계놈에 통합되었는지 평가하거나 알아내어 추가 배양을 위한 조건을 경험적으로 알아내는 것은 숙련된 기술자의 수준 내에 있다. 일부 구현예에서, 바이러스 벡터의 숙주 계놈으로의 통합은 인큐베이션 후 바이러스 벡터 입자의 계놈에 함유된 핵산에 의해 암호화되는 이중 단백질과 같은 재조합 단백질의 발현 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. 친화도 기반 방법, 예를 들어, 세포 표면 단백질의 맥락에서, 면역 친화도 기반 방법에 의한, 예컨대 유세포 분석에 의한 검출과 같이 재조합 분자의 발현 수준을 평가하기 위한 다수의 잘 알려진 방법이 사용될 수 있다. 일부 예에서, 발현은 형질도입 표지자 및/또는 리포터 구조체의 검출에 의해 측정된다. 일부 구현예에서, 절단된 표면 단백질을 암호화하는 핵산이 벡터 내에 포함되고 발현 및/또는 이의 향상의 표지자로서 사용된다.

[0574] 특정 구현예에서, 인큐베이션은 정적 조건, 예컨대 배지의 원심분리, 흔들기, 회전, 요동, 또는 관류, 예를 들어 연속 또는 반연속 관류를 수반하지 않는 조건에서 수행된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션의 개시 전에 또는 얼마 후에, 예를 들어, 5분, 15분 또는 30분 내에, 세포는 백 또는 바이알과 같은 용기로 이관되고(예를 들어, 멸균 조건에서 이관되고) 인큐베이터 안에 배치된다.

[0575] 일부 구현예에서, 인큐베이션의 적어도 일부는, 예컨대 문헌[국제 공개 번호 W02016/073602]에 기술된 바와 같이, 원심분리 챔버의 내부 공동에서 수행된다.

[0576] 일부 구현예에서, 이중 또는 재조합 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 바이러스 벡터)로 도입된 세포는 인큐베이션을 위해 용기 내로 이관된다. 일부 구현예에서, 용기는 바이알(vial)이다. 구체적인 구현예에서, 용기는 백(bag)이다. 일부 구현예에서, 세포, 및 선택적으로 이중 또는 재조합 폴리펩타이드는 폐쇄 또는 멸균 조건에서 용기 내로 이관된다. 일부 구현예에서, 그런 후, 용기(예를 들어, 바이알 또는 백)는 인큐베이션의 전부 또는 일부 동안 인큐베이터 내에 배치된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이터는 (약) 또는 적어도 16° C, 24° C, 또는 35° C로 설정된다. 일부 구현예에서, 인큐베이터는 37° C, 약 37° C, 또는 37° C ± 2° C, ± 1° C, ± 0.5° C, 또는 ± 0.1° C로 설정된다.

[0577] 일부 측면에서, 인큐베이션을 위한 조건은 특정 배지, 온도, 산소 함량, 이산화탄소 함량, 시간, 제제(agents), 예를 들어 영양소, 아미노산, 항생제, 이온 및/또는 자극 인자, 예컨대 사이토카인, 케모카인, 항원, 결합 파트너, 융합 단백질, 재조합 용해성 수용체 및 세포를 활성화시키기 위해 설계된 임의의 기타 제제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0578] 일부 구현예에서, 인큐베이션은 무혈청 배지에서 수행된다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 명확한 및/또는 아주 명확한 세포 배양 배지이다. 특정 구현예에서, 무혈청 배지는 억제제 및/또는 성장 인자를 제거하기 위해 처리된, 예를 들어 여과된, 조절된 배양 배지이다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 단백질을 함유한다. 특정 구현예에서, 무혈청 배지는 혈청 알부민, 가수 분해물, 성장 인자, 호르몬, 운반체 단백질, 및/또는 부착 인자를 함유할 수 있다.

[0579] 구체적인 구현예에서, 세포는 하나 이상의 사이토카인의 존재 하에서 인큐베이션된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 재조합 사이토카인이다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 인간 재조합 사이토카인이다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 T 세포에 대해 내인성이고/거나 T 세포에 의해 발현되는 수용체에 결합하고/거나 결합할 수 있다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 사이토카인의 4-알파-나선 번들 패밀리의 멤버이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 사이토카인의 4-알파-나선 번들 패밀리의 멤버는 인터루킨-2(IL-2), 인터루킨-4(IL-4), 인터루킨-7(IL-7), 인터루킨-9(IL-9), 인터루킨 12(IL-12), 인터루킨15(IL-15), 과립구 집락 자극 인자(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), 및 과립구-대식 세포 집락 자극 인자(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)를 포함하되 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 IL-15이거나 이를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 IL-7이거나 이를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 재조합 IL-2이거나 이를 포함한다.

- [0580] 구체적 구현예에서, 세포는 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15의 존재 하에서 인큐베이션된다. 특정 구현예에서, IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15는 재조합형이다. 특정 구현예에서, IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15는 인간형이다. 구체적 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 인간 재조합 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, 세포는 재조합 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15의 존재 하에서 인큐베이션된다.
- [0581] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 1 IU/mL 내지 1,000 IU/mL, 10 IU/mL 내지 50 IU/mL, 50 IU/mL 내지 100 IU/mL, 100 IU/mL 내지 200 IU/mL, 100 IU/mL 내지 500 IU/mL, 250 IU/mL 내지 500 IU/mL, 또는 500 IU/mL 내지 1,000 IU/mL 사이 농도의 사이토카인(예를 들어, 재조합 인간 사이토카인)과 함께 인큐베이션된다.
- [0582] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 1 IU/mL 내지 500 IU/mL, 10 IU/mL 내지 250 IU/mL, 50 IU/mL 내지 200 IU/mL, 50 IU/mL 내지 150 IU/mL, 75 IU/mL 내지 125 IU/mL, 100 IU/mL 내지 200 IU/mL, 또는 10 IU/mL 내지 100 IU/mL 사이 농도의 IL-2(예를 들어, 인간 재조합 IL-2)와 함께 인큐베이션된다. 구체적 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 (약) 50 IU/mL, 60 IU/mL, 70 IU/mL, 80 IU/mL, 90 IU/mL, 100 IU/mL, 110 IU/mL, 120 IU/mL, 130 IU/mL, 140 IU/mL, 150 IU/mL, 160 IU/mL, 170 IU/mL, 180 IU/mL, 190 IU/mL, 또는 100 IU/mL 농도의 재조합 IL-2와 함께 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 (약) 100 IU/mL의 재조합 IL-2(예를 들어, 인간 재조합 IL-2)의 존재 하에서 인큐베이션된다.
- [0583] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 100 IU/mL 내지 2,000 IU/mL, 500 IU/mL 내지 1,000 IU/mL, 100 IU/mL 내지 500 IU/mL, 500 IU/mL 내지 750 IU/mL, 750 IU/mL 내지 1,000 IU/mL, 또는 550 IU/mL 내지 650 IU/mL 사이 농도의 재조합 IL-7(예를 들어, 인간 재조합 IL-7)과 함께 인큐베이션된다. 구체적 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 (약) 50 IU/mL, 100 IU/mL, 150 IU/mL, 200 IU/mL, 250 IU/mL, 300 IU/mL, 350 IU/mL, 400 IU/mL, 450 IU/mL, 500 IU/mL, 550 IU/mL, 600 IU/mL, 650 IU/mL, 700 IU/mL, 750 IU/mL, 800 IU/mL, 750 IU/mL, 750 IU/mL, 또는 1,000 IU/mL 농도의 재조합 IL-7과 함께 인큐베이션된다. 구체적 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 (약) 600 IU/mL의 재조합 IL-7의 존재 하에서 인큐베이션된다.
- [0584] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 1 IU/mL 내지 500 IU/mL, 10 IU/mL 내지 250 IU/mL, 50 IU/mL 내지 200 IU/mL, 50 IU/mL 내지 150 IU/mL, 75 IU/mL 내지 125 IU/mL, 100 IU/mL 내지 200 IU/mL, 또는 10 IU/mL 내지 100 IU/mL 사이 농도의 재조합 IL-15(예를 들어, 인간 재조합 IL-15)와 함께 인큐베이션된다. 구체적 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 (약) 50 IU/mL, 60 IU/mL, 70 IU/mL, 80 IU/mL, 90 IU/mL, 100 IU/mL, 110 IU/mL, 120 IU/mL, 130 IU/mL, 140 IU/mL, 150 IU/mL, 160 IU/mL, 170 IU/mL, 180 IU/mL, 190 IU/mL, 또는 200 IU/mL 농도의 재조합 IL-15와 함께 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 (약) 100 IU/mL의 재조합 IL-15(예를 들어, 인간 재조합 IL-15)의 존재 하에서 인큐베이션된다.
- [0585] 구체적 구현예에서, 세포(예를 들어, 형질전환된 세포)는 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15의 존재 하에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15는 재조합형이다. 특정 구현예에서, IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15는 인간형이다. 구체적 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 인간 재조합 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, 세포는 재조합 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15의 존재 하에서 인큐베이션된다.
- [0586] 일부 구현예에서, 인큐베이션의(예를 들어, 비증폭 공정의) 전부 또는 일부는 기본 배지(예를 들어, CTS OpTmizer 기본 배지(Thermofisher)), 글루타민, 및 하나 이상의 사이토카인(예컨대, 재조합 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15)을 포함하는 배지에서 수행된다. 일부 구현예에서, 배지는 하나 이상의 추가 성분을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 성분은 L-글루타민의 다이펩타이드 형태(예를 들어, L-알라닐-L-글루타민)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 성분은 추가 보충물(예를 들어, OpTmizer® 보충물(Thermofisher))에 의해 제공된다. 일부 구현예에서, 배지는 무혈청 배지이고 임의의 혈청 성분을 함유하지 않는다. 일부 측면에서, 배지는 하나 이상의 혈청 대체 단백질, 예컨대 알부민, 인슐린 또는 트랜스페린 중 하나 이상(예를 들어, CTS™ 면역 세포 혈청 대체물)을 함유할 수 있다.
- [0587] 일부 구현예에서, 세포는, 예컨대 상기 기술된 자극의 방법 또는 공정과 관련하여 수행된, 세포의 자극 동안 존재했던 것과 동일한 또는 유사한 배지의 존재 하에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 세포는, 예컨대 상기 기술된 자극의 방법 또는 공정과 관련하여 수행된, 세포의 자극 동안 존재했던 배지와 동일한 사이토카인들을 갖는 배지에서 인큐베이션된다. 특정 구현예에서, 세포는, 예컨대 상기 기술된 자극의 방법 또는 공정과 관련하여

여 수행된, 세포의 자극 동안 존재한 배지와 동일한 농도의 동일한 사이토카인들을 갖는 배지에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 세포는 재조합 사이토카인의 부재 하에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 세포는 본원에 기술된 바와 같은 하나 이상의 사이토카인의 부재 하에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 세포는 본원에 기술된 모든 사이토카인의 부재 하에서 인큐베이션된다.

[0588] 일부 측면에서, 세포가 휴지하거나 회복되어 자극 조건의 존재를 예를 들어 재조합 사이토카인 또는 다른 자극제의 형태로 포함하지 않도록 하는 조건에서 추가 인큐베이션이 수행된다. 예를 들어, 인큐베이션은 인큐베이션 동안 세포의 건강한 배양을 지원 또는 유지하기에 충분한 희박 배지의 존재 하에서 수행된다.

[0589] 일부 구현예에서, 인큐베이션의 전부 또는 일부는 기본 배지, 예컨대 하나 이상의 재조합 사이토카인이 없거나 임의의 재조합 사이토카인이 없는 기본 배지에서 수행된다. 일부 구현예에서, 배지는 하나 이상의 재조합 사이토카인, 예컨대 재조합 인간 IL-2, 재조합 인간 IL-7, 및/또는 재조합 인간 IL-15를 포함하지 않는다. 일부 측면에서, 인큐베이션은 임의의 재조합 사이토카인 없이 수행된다. 특정 구현예에서, 기본 배지는 추가 첨가제가 보충된다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 임의의 추가 첨가제가 보충되지 않는다. 세포 배양 배지에 대한 첨가물에는 영양소, 설탕, 예를 들어 글루코스, 아미노산, 비타민, 또는 ATP 및 NADH 등의 첨가제가 포함될 수 있으나 이에 한정되지는 않는다. 다른 첨가제들 또한 첨가될 수 있지만 일반적으로 특정 첨가제들 및 양은 세포와 배지의 인큐베이션이 인큐베이션 동안 세포의 유지를 촉진하지만 세포의 대사 활성을 최소화하고/거나, 제한하고/거나 유도하지 않도록 하는 정도이다.

[0590] 구체적인 구현예에서, 배지는 하나 이상의 재조합 사이토카인을 함유하지 않고 혈청 성분을 함유하지 않는 기본 배지, 즉 무혈청 배지이지만, 하나 이상의 추가 성분을 함유할 수 있다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션의(예를 들어, 비증폭 공정의) 전부 또는 일부에서 이러한 무혈청 배지의 사용은 세포의 유지를 제공하지만 세포를 활성화하거나 세포가 대사적으로 활성이 되게 하여 세포를 휴지 또는 정지 상태이거나 그 상태일 가능성이 있는 상태로 세포를 양성할 수 있는 특정 인자들을 포함하지 않는 희박 배지를 제공한다. 일부 측면에서, 이러한 무혈청 배지의 존재 하에서 인큐베이션은 자극 및 유전자 조작(예를 들어, 형질도입) 후에 세포가 회복되거나 휴지되도록 한다. 일부 측면에서, 이러한 무혈청 배지의 존재 하에서 인큐베이션은, 예를 들어 제조 공정 도중 또는 후에 및 수확된/제형화된 세포를 냉동 보존하고 이후 사용하기 직전에 해동할 때, 손상 또는 생존력의 손실에 덜 민감한 세포를 함유하는 산출 조성물을 생성한다. 일부 구현예에서, 해동될 때 상기 산출 조성물 내 세포는 유사한 배지지만 하나 이상의 재조합 사이토카인, 혈청 또는 세포가 산출 조성물의 냉동 보존 시 더 대사적으로 활성이 되게 할 수 있는 다른 인자들을 함유한 배지에서 인큐베이션된 세포보다 더 낮은 수준의 카스파제 또는 다른 세포자멸사 표지자를 갖는다.

[0591] 일부 구현예에서, 기본 배지는 무기염, 설탕, 아미노산 및 선택적으로 비타민, 유기산 및/또는 완충제 또는 기타 잘 알려진 세포 배양 영양소의 혼합물을 함유한다. 영양소 외에 배지는 또한 pH와 오스몰 농도 유지를 돕는다. 일부 측면에서, 기본 배지 시약은 세포 성장, 증식 및/또는 증폭을 지원한다. 상업적으로 이용 가능한 다양한 기본 배지는 당업자에게 잘 알려져 있으며, DMEM(Dulbeccos' Modified Eagles Medium), RPMI(Roswell Park Memorial Institute Medium), Iscove modified Dulbeccos' 배지 및 Hams 배지를 포함한다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 Iscove's Modified Dulbeccos' Medium, RPMI-1640 또는 α -MEM이다.

[0592] 일부 구현예에서, 기본 배지는 균형 잡힌 염용액(예를 들어, PBS, DPBS, HBSS, EBSS)이다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium), MEM(Minimal Essential Medium), BME(Basal Medium Eagle), F-10, F-12, RPMI 1640, GMEM(Glasgow's Minimal Essential Medium), 알파 MEM(alpha Minimal Essential Medium), Iscove's Modified Dulbecco's Medium 및 M199로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 복합 배지(예를 들어, RPMI-1640, IMDM)이다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 OpTmizer™ CTS™ T 세포 증폭 기본 배지(ThermoFisher)이다.

[0593] 일부 구현예에서, 기본 배지는 단백질이 없다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 인간 단백질(예를 들어, 인간 혈청 단백질)이 없다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 혈청이 없다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 인간으로부터 유래된 혈청이 없다. 일부 구현예에서, 기본 배지에는 재조합 단백질이 없다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 인간 단백질과 재조합 단백질이 없다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 본원에 기술된 바와 같은 하나 이상 또는 모든 사이토카인이 없다. 일부 구현예에서, 인큐베이션의(예를 들어, 비증폭 공정의) 전부 또는 일부는 임의의 추가 첨가제 또는 재조합 사이토카인 없는 기본 배지에서 수행된다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 임의의 추가 첨가제 또는 재조합 사이토카인 없는 CTS OpTmizer 기본 배지(Thermofisher)이다.

[0594] 일부 구현예에서, 인큐베이션의(예를 들어, 비증폭 공정의) 전부 또는 일부는 기본 배지 및 글루타민을 포함하

는 배지(예를 들어, 글루타민과 CTS OpTmizer 기본 배지(Thermofisher))에서 수행된다.

[0595] 일부 구현예에서, 인큐베이션의(예를 들어, 비증폭 공정의) 전부 또는 일부는 기본 배지(예를 들어, CTS OpTmizer 기본 배지(Thermofisher))를 포함하고 하나 이상의 사이토카인(예컨대, 재조합 인간 IL-2, 재조합 IL-7, 및/또는 재조합 IL-15)이 없는 배지에서 수행된다. 일부 구현예에서, 배지는 하나 이상의 추가 비혈청 성분이 보충된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 보충물은 무혈청이다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 유리 형태(free form)의 아미노산, 예컨대 L-글루타민을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 혈청 대체 보충물을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 L-글루타민의 다이펩타이드 형태(예를 들어, L-알라닐-L-글루타민)를 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 재조합 사이토카인을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 T 세포 보충물 및 유리 형태의 L-글루타민이 보충된 기본 배지를 포함하고, 면역 세포 혈청 대체물, L-글루타민의 다이펩타이드 형태, 또는 재조합 사이토카인을 함유하지 않는다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 기본 배지(예를 들어, OpTmizer™ T 세포 증폭 기본 배지), L-글루타민 및 보충물(예를 들어, OpTmizer™ T 세포 증폭 보충물)에 의해 제공되는 것과 같은 하나 이상의 추가 성분을 포함한다.

[0596] 구체적인 구현예에서, 세포는 (약) 0.25×10^6 개 세포/mL, 0.5×10^6 개 세포/mL, 0.75×10^6 개 세포/mL, 1.0×10^6 개 세포/mL, 1.25×10^6 개 세포/mL, 1.5×10^6 개 세포/mL, 1.75×10^6 개 세포/mL, 또는 2.0×10^6 개 세포/mL 농도로 무혈청 배지에서 인큐베이션된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 (약) 0.75×10^6 개 세포/mL의 농도로 무혈청 배지에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 18 내지 30시간 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 24시간 동안 또는 (약) 1일 동안 수행된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 각각 (약) 48시간 또는 72시간 동안, 또는 (약) 2일 또는 3일 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 24시간 $\pm$ 6시간, 48시간 $\pm$ 6시간 또는 72시간 $\pm$ 6시간 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 72시간, 72시간 $\pm$ 4시간 동안, 또는 (약) 3일 동안 수행되고, 예를 들어, 그 시간 동안 세포는 (약) 0.75×10^6 개 세포/mL의 농도로 무혈청 배지에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션의 전부 또는 일부는 기본 배지(예를 들어, CTS OpTmizer 기본 배지(Thermofisher))를 포함하고 하나 이상의 사이토카인(예컨대, 재조합 인간 IL-2, 재조합 IL-7, 및/또는 재조합 IL-15)이 없는 무혈청 배지에서 수행된다. 일부 구현예에서, 무혈청 배지는 L-글루타민 및/또는 하나 이상의 세포 보충물(예를 들어, OpTmizer™ T 세포 증폭 보충물)이 보충되지만, 면역 세포 혈청 대체물, L-글루타민의 다이펩타이드 형태, 또는 재조합 사이토카인을 함유하지 않는다.

[0597] 구체적인 구현예에서, 세포는 사이토카인의 부재 하에서 인큐베이션된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 재조합 사이토카인의 부재 하에서 인큐베이션된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 하나 이상의 재조합 사이토카인, 예컨대 재조합 IL-2, IL-7, 및/또는 IL-15의 부재 하에서 인큐베이션된다.

[0598] 일부 구현예에서, 기본 배지는 L-글루타민 등의 글루타민을 더 포함한다. 일부 측면에서, 글루타민은 L-글루타민 등의 유리 형태의 글루타민이다. 일부 구현예에서, 기본 배지 중 L-글루타민 등의 글루타민의 농도는 (약) 0.5mM-1mM, 0.5mM-1.5mM, 0.5mM-2mM, 0.5mM-2.5mM, 0.5mM-3mM, 0.5mM-3.5mM, 0.5mM-4mM, 0.5mM-4.5mM, 0.5mM-5mM, 1mM-1.5mM, 1mM-2mM, 1mM-2.5mM, 1mM-3mM, 1mM-3.5mM, 1mM-4mM, 1mM-4.5mM, 1mM-5mM, 1.5mM-2mM, 1.5mM-2.5mM, 1.5mM-3mM, 1.5mM-3.5mM, 1.5mM-4mM, 1.5mM-4.5mM, 1.5mM-5mM, 2mM-2.5mM, 2mM-3mM, 2mM-3.5mM, 2mM-4mM, 2mM-4.5mM, 2mM-5mM, 2.5mM-3mM, 2.5mM-3.5mM, 2.5mM-4mM, 2.5mM-4.5mM, 2.5mM-5mM, 3mM-3.5mM, 3mM-4mM, 3mM-4.5mM, 3mM-5mM, 3.5mM-4mM, 3.5mM-4.5mM, 3.5mM-5mM, 4mM-4.5mM, 4mM-5mM, 또는 4.5mM-5mM(각 수치 포함) 또는 그 미만이다. 일부 구현예에서, 기본 배지 중 L-글루타민 등의 글루타민의 농도는 적어도 약 0.5mM, 1mM, 1.5mM, 2mM, 2.5mM, 3mM, 3.5mM, 4mM, 4.5mM 또는 5mM이다. 일부 구현예에서, 기본 배지 중 L-글루타민 등의 글루타민의 농도는 최대 약 2mM, 2.5mM, 3mM, 3.5mM, 4mM, 4.5mM 또는 5mM이다. 일부 구현예에서, 기본 배지 중 L-글루타민 등의 글루타민의 농도는 약 2mM이다. 일부 구현예에서, 기본 배지는 단백질 또는 펩타이드를 더 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 단백질은 비포유류 기원이 아니다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 단백질은 인간형이거나 인간으로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 단백질은 재조합형이다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 단백질은 알부민, 트랜스페린, 인슐린, 피브로넥틴, 아프로티닌 또는 페투인을 포함한다. 일부 구현예에서, 단백질은 알부민, 인슐린 또는 트랜스페린 중 하나 이상, 선택적으로 인간 또는 재조합 알부민, 인슐린 또는 트랜스페린 중 하나 이상을 포함한다.

[0599] 일부 구현예에서, 단백질은 알부민 또는 알부민 대체제이다. 일부 구현예에서, 알부민은 인간 유래 알부민이다. 일부 구현예에서, 알부민은 재조합 알부민이다. 일부 구현예에서, 알부민은 천연 인간 혈청 알부민이다. 일부 구현예에서, 알부민은 재조합 인간 혈청 알부민이다. 일부 구현예에서, 알부민은 비인간 공급원 유래 재조합 알

부민이다. 알부민 대체제는 임의의 단백질 또는 폴리펩타이드 공급원일 수 있다. 상기 단백질 또는 폴리펩타이드 샘플의 예로는 소 뇌하수체 추출물, 식물 가수 분해물(예를 들어, 쌀 가수 분해물), 태아 송아지 알부민(페투인), 달걀 알부민, 인간 혈청 알부민(human serum albumin, HSA) 또는 다른 동물 유래 알부민, 병아리 추출물, 소 배아 추출물, AlbuMAX® I 및 AlbuMAX® II를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 단백질 또는 펩타이드는 트랜스페린을 포함한다. 일부 구현예에서, 단백질 또는 펩타이드는 피브로넥틴(fibronectin)을 포함한다. 일부 구현예에서, 단백질 또는 펩타이드는 아프로티닌(aprotinin)을 포함한다. 일부 구현예에서, 단백질은 페투인(fetuin)을 포함한다.

[0600] 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 단백질은 기본 배지에 첨가되는 혈청 대체 보충물의 일부이다. 혈청 대체 보충물의 예로는 면역 세포 혈청 대체물(ThermoFisher, #A2598101) 또는 문헌[Smith 등 *Clin Transl Immunology*. 2015 Jan; 4(1): e31]에 기술된 것이 포함되나 이에 한정되지는 않는다.

[0601] 특정 구현예에서, 세포는 이중 또는 재조합 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 바이러스 벡터)의 도입 이후 (약) 또는 적어도 18시간, 24시간, 30시간, 36시간, 40시간, 48시간, 54시간, 60시간, 72시간, 84시간, 96시간 동안, 또는 96시간 넘게 인큐베이션된다. 특정 구현예에서, 세포는 이중 또는 재조합 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 바이러스 벡터)의 도입 이후 (약) 또는 적어도 1일, 2일, 3일, 4일 동안, 또는 4일 넘게 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 유전자 조작 전 30분 내지 2시간, 1시간 내지 8시간, 6시간 내지 12시간, 12시간 내지 18시간, 16시간 내지 24시간, 18시간 내지 30시간, 24시간 내지 48시간, 24시간 내지 72시간, 42시간 내지 54시간, 60시간 내지 120시간, 96시간 내지 120시간, 90시간 내지, 1일 내지 7일, 3일 내지 8일, 1일 내지 3일, 4일 내지 6일, 또는 4일 내지 5일의 시간량 동안 수행된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 18 내지 30시간 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 24시간 동안 또는 (약) 1일 동안 수행된다.

[0602] 특정 구현예에서, 인큐베이션의 총 기간은 (약) 또는 적어도 12시간, 18시간, 24시간, 30시간, 36시간, 42시간, 48시간, 54시간, 60시간, 72시간, 84시간, 96시간, 108시간 또는 120시간이다. 특정 구현예에서, 인큐베이션의 총 기간은 (약) 또는 적어도 1일, 2일, 3일, 4일 또는 5일이다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 120시간, 108시간, 96시간, 84시간, 72시간, 60시간, 54시간, 48시간, 42시간, 36시간, 30시간, 24시간, 18시간 또는 12시간에 또는 그 이내에 완료된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 1일, 2일, 3일, 4일 또는 5일에 또는 그 이내에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션의 총 기간은 (약) 12시간 내지 120시간, 18시간 내지 96시간, 24시간 내지 72시간 또는 24시간 내지 48시간(수치 포함)이다. 일부 구현예에서, 인큐베이션의 총 기간은 (약) 1시간 내지 48시간, 4시간 내지 36시간, 8시간 내지 30시간 또는 12시간 내지 24시간(수치 포함)이다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 각각 (약) 24시간, 48시간 또는 72시간 동안 또는 (약) 1일, 2일 또는 3일 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 24시간 $\pm$ 6시간, 48시간 $\pm$ 6시간 또는 72시간 $\pm$ 6시간 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 각각 (약) 72시간 동안 또는 (약) 3일 동안 수행된다.

[0603] 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시 이후 (약) 또는 적어도 12시간, 18시간, 24시간, 30시간, 36시간, 42시간, 또는 48시간에 개시된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시 이후 (약) 또는 적어도 0.5일, 1일, 1.5일, 또는 2일에 개시된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시로부터 (약) 120시간, 108시간, 96시간, 84시간, 72시간, 60시간, 54시간, 48시간, 42시간, 36시간, 30시간, 24시간, 18시간 또는 12시간에 또는 그 이내에 개시된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시로부터 (약) 5일, 4일, 3일, 2일, 1일 또는 0.5일에 또는 그 이내에 개시된다.

[0604] 일부 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시 이후 (약) 24시간 내지 120시간, 36시간 내지 108시간, 48시간 내지 96시간 또는 48시간 내지 72시간(수치 포함)에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시로부터 (약) 120시간, 108시간, 96시간, 72시간, 48시간, 또는 36시간에 또는 그 이내에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시로부터 (약) 5일, 4.5일, 4일, 3일, 2일, 또는 1.5일에 또는 그 이내에 완료된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 자극의 개시 이후 (약) 24시간 $\pm$ 6시간, 48시간 $\pm$ 6시간, 또는 72시간 $\pm$ 6시간 후에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 72시간 이후 또는 (약) 3일 이후 완료된다.

[0605] 일부 구현예에서, 인큐베이션은 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드가 계놈 내로 통합되기에 충분한 시간량 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 2배체 계놈 당 (약) 또는 적어도 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 또는 5 이상의 통합된 바이러스 카피수(iVCN)에 충분한 시간량 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 (약) 또는 적어도 0.5 또는 1의 iVCN에 충분한 시간량 동안 수행된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드가 계놈 내로 안정적으로 통합되기에 충분한 시간량 동안 수행된다. 구체

적인 구현예에서, 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드는 2배체 게놈 당 iVCN이 일정 시간 동안, 예를 들어, 적어도 12, 24, 또는 48시간 동안 20%, 15%, 10%, 5%, 1%, 또는 0.1% 넘게 변하지 않을 때 안정적으로 통합되었다고 간주된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 안정적 통합 전에 완료된다.

[0606] 특정 구현예에서, 인큐베이션은 적어도 통합 백터가 게놈 내에서 검출될 때까지 수행된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 2배체 게놈 당 안정적 통합 백터 카피수(iVCN)를 달성하기 전에 완료된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 적어도 통합 백터가 게놈 내에서 검출될 때까지 하지만 2배체 게놈 당 안정적 iVCN을 달성하기 전까지 수행된다. 특정 구현예에서, 2배체 게놈 당 안정적 iVCN은 iVCN이 최고조에 달하고/거나 일정 기간 동안 변하지 않고 유지되거나 허용 오차 내에서 변하지 않고 유지될 때 달성된다. 일부 구현예에서, 허용 오차는 (약) $\pm 40\%$, $\pm 35\%$, $\pm 30\%$, $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$, 또는 $\pm 1\%$ 미만 또는 그 이내이다. 특정 구현예에서, 기간은 (약) 또는 적어도 2시간, 4시간, 6시간, 8시간, 12시간, 16시간, 18시간, 24시간, 36시간, 48시간, 60시간, 또는 72시간이다. 특정 구현예에서, 기간은 (약) 또는 적어도 1일, 2일, 또는 3일이다. 특정 구현예에서, 2배체 게놈 당 안정적 iVCN은 iVCN이 최고조에 달하고 (약) 또는 적어도 24시간 또는 1일 이상의 일정 기간 동안 변하지 않고 유지되거나 허용 오차, 예를 들어, $\pm 25\%$ 내에서 변하지 않고 유지될 때 달성된다. 일부 구현예에서, 2배체 게놈 당 안정적 iVCN은 형질전환된 세포의 집단의 2배체 게놈 중 총 백터 카피수(VCN)에 대한 iVCN의 분율(fraction)이 평균적으로 (약) 또는 적어도 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 또는 1.5이거나, 이의 허용 오차, 예를 들어, $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, 또는 $\pm 1\%$ 이내일 때 달성된다. 특정 구현예에서, 2배체 게놈 당 안정적 iVCN은 형질전환된 세포의 집단의 2배체 게놈 중 총 백터 카피수(VCN)에 대한 iVCN의 분율이 평균적으로 (약) 0.8이거나, 이의 허용 오차 이내일 때 달성된다. 일부 구현예에서, 2배체 게놈 당 안정적 iVCN은 형질전환된 세포의 집단의 2배체 게놈 중 총 백터 카피수(VCN)에 대한 iVCN의 분율이 평균적으로 (약) 1.0이거나, 이의 허용 오차 이내일 때 달성된다.

[0607] 일부 구현예에서, 인큐베이션은 iVCN이 2배체 게놈 당 (약) 또는 적어도 5.0, 4.0, 3.0, 2.5, 2.0, 1.75, 1.5, 1.25, 1.2, 1.1, 1.0, 0.9, 0.8, 0.75, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 또는 0.25개 카피에 도달하기 전에 완료된다. 특정 구현예에서, 인큐베이션은 iVCN이 2배체 게놈 당 (약) 1.0개 카피에 도달하기 전에 완료된다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션은 iVCN이 2배체 게놈 당 (약) 0.5개 카피에 도달하기 전에 완료된다.

[0608] 특정 구현예에서, 세포는 세포 집단의 (약) 또는 적어도 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 8회, 10회, 20회, 또는 그 이상의 세포 배가, 예를 들어 인큐베이션 중에 일어나는 배가 전에 수확된다. 구체적인 구현예에서, 세포 배가의 양은 조작 공정의 여러 시점들에서, 예컨대 여러 시점들 또는 단계들에서 집단 내 생존 세포의 수를 측정하여 계산할 수 있다. 구체적인 구현예에서, 세포 배가는 한 시점의 생존 세포의 총 수 대 이전 시점에 존재하는 생존 세포의 총 수를 비교하여 계산할 수 있다. 특정 구현예에서, 인큐베이션은 세포 집단의 (약) 또는 적어도 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 8회, 10회, 20회, 또는 그 이상의 세포 배가, 예를 들어 인큐베이션 중에 일어나는 배가 전에 완료된다. 특정 측면에서, 세포 배가는 인큐베이션이 개시될 때와 인큐베이션이 완료될 때 총 유핵 세포 수(TNC)를 측정하고, 이어서 완료 시 TNC의 생성물의 자연 로그를 개시 시 TNC로 나눈 다음, 상기 생성물의 자연 로그를 2의 자연 로그로 나눔으로써 계산된다.

[0609] 일부 측면에서, 집단 내에서, 예를 들어 조작 공정 동안, 일어나는 배가 수는 다음 공식을 사용하여 결정된다:

$$1) \text{ 세포 배가} = \frac{\ln\left(\frac{\text{수확 시 TNC}}{3 \text{ 일 후 TNC} - \text{활성}}\right)}{\ln 2}$$

[0610]

[0611] 일부 측면에서, 집단 내에서, 예를 들어 조작 공정 동안, 일어나는 배가 수는 다음 공식을 사용하여 결정된다:

$$2) \text{ 세포 배가} = \frac{\ln\left(\frac{\text{수확 시 TNC}}{\text{자극의 개시 시 TNC}}\right)}{\ln 2}$$

[0612]

[0613] 특정 구현예에서, 집단 내에서, 예를 들어 조작 공정 동안, 일어나는 배가 수는 다음 공식을 사용하여 결정된다:

$$3) \text{ 세포 배가} = \frac{\ln \left(\frac{\text{수확 시 TNC}}{\text{자극 후 TNC}} \right)}{\ln 2}$$

다양한 구현예에서, 집단 내에서, 예를 들어 조작 공정 동안, 일어나는 배가 수는 다음 공식을 사용하여 결정된다:

$$4) \text{ 세포 배가} = \frac{\ln \left(\frac{\text{수확 시 TNC}}{\text{형질도입 시 TNC}} \right)}{\ln 2}$$

구체적인 구현예에서, 집단 내에서, 예를 들어 조작 공정 동안, 일어나는 배가 수는 다음 공식을 사용하여 결정된다:

$$5) \text{ 세포 배가} = \frac{\ln \left(\frac{\text{수확 시 TNC}}{\text{인큐베이션의 개시 시 TNC}} \right)}{\ln 2}$$

특정 구현예에서, 인큐베이션은 세포의 총 수, 예를 들어 인큐베이션된 세포 또는 인큐베이션을 거친 세포의 총 수가 투입 집단의 세포의 수, 예를 들어, 자극 시약과 접촉한 세포의 총 수의 (약) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 20배보다 크거나 20배 이상보다 크게 되기 전에 완료된다. 다양한 구현예에서, 인큐베이션은 인큐베이션된 세포의 총 수가 형질전환, 형질도입, 또는 회전 접종된 세포의 총 수, 예를 들어, 바이러스 벡터와 접촉한 세포의 총 수의 (약) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 20배보다 크거나 20배 이상보다 크게 되기 전에 완료된다. 특정 구현예에서, 세포는 T 세포, 생존 T 세포, CD3+ T 세포, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, CAR 발현 T 세포, 또는 상기 중 임의의 것의 조합이다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 세포의 총 수가 투입 집단의 세포의 총 수보다 커지기 전에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 생존 CD3+ T 세포의 총 수가 투입 집단의 생존 CD3+ 세포의 총 수보다 커지기 전에 완료된다. 특정 구현예에서, 인큐베이션은 세포의 총 수가 형질전환, 형질도입, 또는 회전 접종된 세포의 총 수보다 커지기 전에 완료된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 생존 CD3+ T 세포의 총 수가 형질전환, 형질도입, 또는 회전 접종된 세포의 생존 CD3+의 총 수보다 커지기 전에 완료된다.

일부 구현예에서, 세포 집단의 총 세포 수 또는 총 생존 세포 수는 인큐베이션 동안 유사하게, 동일하게, 또는 본질적으로 동일하게 유지된다. 구체적인 구현예에서, 세포 집단의 총 세포 수 또는 총 생존 세포 수는 인큐베이션 동안 변하지 않는다. 일부 측면에서, 총 세포 수 또는 총 생존 세포 수는 인큐베이션 동안 감소한다. 구체적인 측면에서, 총 생존 세포 수는 자극의 개시 전에(예를 들어, 바로 전에) 또는 자극의 개시 시점에 투입 집단의 총 세포 수 또는 총 생존 세포 수의 (약) 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55% 또는 50%이거나 그 미만이다.

6. 자극 시약의 제거

일부 구현예에서, 인큐베이션된 T 세포의 집단은, 경쟁 제제 등의 물질이 T 세포에 첨가되어 자극제(들)의 신호 전달을 방해(예컨대 감소 및/또는 종결)하는, 본원에 제공된 임의의 방법에 따라 생산 또는 생성되었다. 일부 구현예에서, 인큐베이션된 T 세포의 집단은 경쟁 제제, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예를 들어 D-비오틴 등의 물질의 존재를 함유한다. 일부 구현예에서, 경쟁 제제, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예를 들어 D-비오틴 등의 물질은 이 물질이 인큐베이션 동안 외인성으로 첨가되지 않은 배양된 T 세포의 기준 집단 또는 조제품 내 이 물질의 양보다 적어도 1.5배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 100배, 적어도 1000배 또는 그 이상의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 배양된 T 세포의 집단에

서 경쟁 제제, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예를 들어 D-비오틴 등의 물질의 양은 (약) $10\mu\text{M}$ 내지 $100\mu\text{M}$, $100\mu\text{M}$ 내지 1mM , $100\mu\text{M}$ 내지 $500\mu\text{M}$ 또는 $10\mu\text{M}$ 내지 $100\mu\text{M}$ 이다. 일부 구현예에서, 세포 또는 세포 집단으로부터 올리고머성 자극 시약을 분리 또는 제거하기 위해 $10\mu\text{M}$ 또는 약 $10\mu\text{M}$ 의 비오틴 또는 비오틴 유사체(예를 들어, D-비오틴)가 세포 또는 세포 집단에 첨가된다.

[0623] 특정 구현예에서, 하나 이상의 제제(예를 들어, TCR 및/또는 공동 수용체를 자극 또는 활성화하는 제제들)는, 예컨대 올리고머성 시약 상에 존재하는 복수의 특정 결합 부위(예를 들어, 결합 부위 Z)를 통해, 올리고머성 시약과 회합한다(예컨대 가역적으로 결합된다). 일부 경우에, 이 결과로 제제는 서로 가깝게 배열되어 만일 제제에 의해 결합되는 또는 인식되는 세포 표면 분자(의 적어도 2개 카피)를 가진 표적 세포가 제제와 접촉하게 되면 결합력 효과(avidity effect)가 발생할 수 있다. 일부 측면에서, 수용체 결합 시약은 결합 부위 B에서 세포의 수용체 분자에 대해 낮은 친화도를 가져서, 수용체 결합 시약은 경쟁 시약의 존재 하에서 세포로부터 해리된다. 따라서, 일부 구현예에서, 제제들은 경쟁 시약의 존재 하에서 세포로부터 제거된다.

[0624] 일부 구현예에서, 올리고머성 자극 시약은 항-CD3 및 항-CD28 Fab가 가역적으로 부착된 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머이다. 일부 구현예에서, 부착된 Fab는 예를 들어 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머에 가역적 부착이 가능하게 하는 스트렙타비딘 결합 도메인을 함유한다. 일부 경우에, 항-CD3 및 항-CD28 Fab는, CD3 및/또는 CD28을 발현하는 T 세포가 Fab가 가역적으로 부착된 올리고머성 자극 시약과 접촉하게 되면, 결합활성 효과가 발생할 수 있도록 서로 가깝게 배열된다. 일부 측면에서, Fab는 CD3 및 CD28에 대해 낮은 친화도를 가져서, Fab는 경쟁 시약, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 변이체 또는 유사체의 존재 하에서 세포로부터 해리된다. 따라서, 일부 구현예에서, Fab는 경쟁 시약(예를 들어, D-비오틴)의 존재 하에서 세포로부터 제거되거나 해리된다.

[0625] 일부 구현예에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인 시약)은 세포를 채집, 수확, 또는 제형화하기 전에 세포 또는 세포 집단으로부터 제거되거나 분리된다. 일부 구현예에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인 시약)은, 인큐베이션, 예를 들어 본원의 섹션 II-C-5에 기술된 인큐베이션 이후 또는 동안, 경쟁 시약, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예컨대 D-비오틴에 접촉 또는 노출시켜 세포 또는 세포 집단으로부터 제거되거나 분리된다. 특정 구현예에서, 인큐베이션 이후, 그러나 세포를 채집, 수확, 또는 제형화하는 단계 전에, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인 시약)을 제거하기 위해 세포 또는 세포 집단을 경쟁 시약, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예컨대 D-비오틴에 접촉 또는 노출시킨다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션 이후, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인 시약)을 제거하기 위해 세포 또는 세포 집단을 경쟁 시약, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예컨대 D-비오틴에 접촉 또는 노출시킨다. 일부 측면에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인 시약)이 인큐베이션 동안, 예를 들어 경쟁 시약, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예컨대 D-비오틴에 접촉 또는 노출시켜 세포로부터 분리 또는 제거될 때, 세포는 인큐베이션의 나머지 기간 동안 분리 또는 제거 전에 동일한 인큐베이션 조건으로 복귀된다.

[0626] 일부 구현예에서, 세포로부터 올리고머성 자극 시약을 제거 또는 분리하기 위해 세포를 (약) 또는 적어도 $0.01\mu\text{M}$, $0.05\mu\text{M}$, $0.1\mu\text{M}$, $0.5\mu\text{M}$, $1\mu\text{M}$, $2\mu\text{M}$, $3\mu\text{M}$, $4\mu\text{M}$, $5\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$, $100\mu\text{M}$, $500\mu\text{M}$, $0.01\mu\text{M}$, 1mM , 또는 10mM 의 경쟁 시약과 접촉시킨다. 다양한 구현예에서, 세포로부터 항-CD3 및 항-CD28이 가역적으로 부착된 자극성 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머를 제거 또는 분리하기 위해 세포를 (약) 또는 적어도 $0.01\mu\text{M}$, $0.05\mu\text{M}$, $0.1\mu\text{M}$, $0.5\mu\text{M}$, $1\mu\text{M}$, $2\mu\text{M}$, $3\mu\text{M}$, $4\mu\text{M}$, $5\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$, $100\mu\text{M}$, $500\mu\text{M}$, $0.01\mu\text{M}$, 1mM , 또는 10mM 의 비오틴 또는 비오틴 유사체 예컨대 D-비오틴과 접촉시킨다. 다양한 구현예에서, 항-CD3 및 항-CD28 Fab가 가역적으로 부착된 올리고머성 자극 시약, 예컨대 스트렙타비딘 뮤테인 올리고머를 세포로부터 제거하기 위해, 세포를 (약) $100\mu\text{M}$ 및 10mM , 예를 들어, 1mM 의 비오틴 또는 비오틴 유사체 예컨대 D-비오틴과 접촉시킨다. 다양한 구현예에서, 세포를 D-비오틴에 접촉 또는 노출 후 (약) $100\mu\text{M}$ 및 10mM , 예를 들어, 1mM 의 비오틴 또는 비오틴 유사체 예컨대 D-비오틴과 (약) 2시간, 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 30시간, 36시간, 42시간, 또는 48시간 동안 접촉시킨다.

[0627] 구체적인 구현예에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인 시약)은 자극의 개시로부터 (약) 120시간, 108시간, 96시간, 84시간, 72시간, 60시간, 48시간, 36시간, 24시간, 또는 12시간 (수치 포함) 이내에 세포로부터 제거 또는 분리된다. 구체적인 구현예에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인 시약)은 자극의 개시로부터 (약) 5일, 4일, 3일, 2일, 1일 또는 0.5일(수치 포함) 이내에 세포로부터 제거 또는 분리된다. 구체적인 구현예에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인 시약)은 자극이 개시된 이후 (약) 48시간 또는 (약) 2일에 세포로부터 제거 또는 분리된다. 특정 구현예에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트렙타비딘 뮤테인

시약)은 자극이 개시된 이후 (약) 72시간 또는 (약) 3일에 세포로부터 제거 또는 분리된다. 일부 구현예에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트랩타비딘 뮤테인 시약)은 자극이 개시된 이후 (약) 96시간 또는 (약) 4일에 세포로부터 제거 또는 분리된다.

[0628]

특정 구현예에서, 자극이 개시된 후 (약) 48시간 또는 (약) 2일에, 예를 들어 본원의 섹션 II-C-5에 기술된 인큐베이션 도중 또는 이후, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트랩타비딘 뮤테인 시약)을 제거하기 위해, 세포 또는 세포 집단을 경쟁 시약, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예컨대 D-비오틴에 접촉 또는 노출시킨다. 일부 측면에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트랩타비딘 뮤테인 시약)이 인큐베이션 동안, 예를 들어 경쟁 시약, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예컨대 D-비오틴에 접촉 또는 노출시켜 세포로부터 분리 또는 제거될 때, 세포는 인큐베이션의 나머지 기간 동안 분리 또는 제거 전에 동일한 인큐베이션 조건으로 복귀된다. 다른 측면에서, 올리고머성 자극 시약(예를 들어, 올리고머성 자극 스트랩타비딘 뮤테인 시약)이 인큐베이션 이후, 예를 들어 경쟁 시약, 예를 들어, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예컨대 D-비오틴에 접촉 또는 노출시켜 세포로부터 분리 또는 제거되면, 세포를 접촉 또는 경쟁 시약에 노출 후 (약) 2시간, 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 30시간, 36시간, 42시간, 또는 48시간 동안 추가로 인큐베이션한다. 일부 구현예에서, D-비오틴 처리된 형질도입 세포를 D-비오틴 첨가 후 (약) 48시간 동안 추가로 인큐베이션한다.

[0629]

7. 세포의 수확, 채집, 또는 제형화

[0630]

일부 구현예에서, 세포를 수확 또는 채집한다. 구체적인 구현예에서, 세포는 인큐베이션 완료 후 채집 또는 수확한다. 특정 구현예에서, 채집 또는 수확된 세포는 산출 집단의 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 집단은 생존한, CD3+, CD4+, CD8+인 및/또는 재조합 수용체(예를 들어, CAR+)에 대해 양성인 세포를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 수확된 CD4+ T 세포 및 제형화된 CD8+ T 세포는 산출 CD4+ T 세포 및/또는 CD8+ T 세포이다. 구체적인 구현예에서, 제형화된 세포 집단, 예를 들어, 농축된 CD4+ 및 CD8+ 세포의 제형화된 집단은 산출 세포 집단, 예를 들어, 농축된 CD4+ 및 CD8+ 세포의 산출 집단이다.

[0631]

일부 구현예에서, 수확, 채집, 또는 제형화된 세포 또는 세포 집단은 증폭, 예를 들어, 세포가 인큐베이션 또는 육성 동안 생존 세포의 양을 증가시키는 조건에서 인큐베이션 또는 육성되는 조건을 거치지 않았다. 예를 들면, 일부 측면에서, 수확된 세포는 인큐베이션 또는 육성의 시작 시 총 생존 세포의 수와 비교하여 인큐베이션 또는 육성의 종료 시에 총 생존 세포의 양이 증가되는 인큐베이션 또는 육성을 거치지 않았다. 일부 구현예에서, 수확된 세포는 상기 인큐베이션 또는 육성 공정의 시작 시와 비교하여 인큐베이션 또는 육성 공정의 종료 시에 생존 세포의 총 수를 증가(예를 들어, 증폭)시킬 목적으로 명시적으로 인큐베이션 또는 육성 단계를 거치지 않았다. 일부 구현예에서, 세포는 증폭을 초래할 수 있는 조건 하에 인큐베이션되지만, 인큐베이션 조건은 세포 집단을 증폭시키기 위한 목적으로 수행되지 않는다. 일부 구현예에서, 수확된 세포는 증폭 단계를 포함하지 않는 공정에서 제조되었다 하더라도 증폭을 겪었을 수 있다. 일부 구현예에서, 증폭 단계를 포함하지 않는 제조 공정을 비증폭 또는 최소 증폭 공정이라 한다. “비증폭(non-expanded)” 공정 또한 “최소 증폭(minimally expanded)” 공정이라 할 수도 있다. 일부 구현예에서, 비증폭 또는 최소 증폭 공정은 그 공정이 증폭을 위한 단계를 포함하지 않음에도 불구하고 증폭을 겪은 세포가 나올 수 있다. 일부 구현예에서, 수확된 세포는 세포 집단 전체의 증폭을 감소, 억제, 최소화 또는 제거하도록 설계된 배지 조성을 포함하는 인큐베이션 또는 육성 단계를 겪었을 수 있다. 일부 구현예에서, 채집된, 수확된, 또는 제형화된 세포는 이전에 생물반응기에서, 또는 세포가 인큐베이션 또는 배양의 전부 또는 일부 동안 요동, 회전, 흔들림, 또는 관류되는 조건 하에 수행된 인큐베이션 또는 육성을 겪지 않았다. 예시적인 제조의 비증폭 공정 및 그러한 공정에 의해 생산된 조작된 세포는 문헌[PCT/US2019/046062]에 개시되며, 이는 그 전체가 참조로 포함된다.

[0632]

일부 구현예에서, 세포 선택, 단리, 분리, 농축, 및/또는 정제 단계가 세포 또는 세포 집단이 수확, 채집, 또는 제형화되기 전에 수행된다. 일부 구현예에서, 세포 선택, 단리, 분리, 농축, 및/또는 정제 단계는 본원에 개시된 바와 같은 크로마토그래피를 사용하여 수행된다. 일부 구현예에서, T 세포 형질도입 이후에 그러나 세포를 수확하기 전에, 채집하기 전에, 및/또는 제형화하기 전에 크로마토그래피에 의한 T 세포 선택 단계가 수행된다. 일부 구현예에서, 세포를 수확하기 바로 전에 크로마토그래피에 의한 T 세포 선택 단계가 수행된다.

[0633]

특정 구현예에서, 자극의 개시부터 세포를 채집, 수확, 또는 제형화하기까지 시간량은 (약) 36시간, 42시간, 48시간, 54시간, 60시간, 72시간, 84시간, 96시간, 108시간, 또는 120시간이거나 그 미만이다. 특정 구현예에서, 자극의 개시부터 세포를 채집, 수확, 또는 제형화하기까지 시간량은 (약) 1.5일, 2일, 3일, 4일, 또는 5일이거나 그 미만이다. 일부 구현예에서, 자극의 개시부터 세포를 채집, 수확, 또는 제형화하기까지 시간량은 (약) 36

시간 내지 120시간, 48시간 내지 96시간, 또는 48시간 내지 72시간(수치 포함), 또는 (약) 1.5일 내지 5일, 2일 내지 4일, 또는 2일 내지 3일(수치 포함)이다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션의 개시부터 세포를 수확, 채집, 또는 제형화하기까지 시간량은 (약) 48시간, 72시간, 또는 96시간이거나 그 미만이다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션의 개시부터 세포를 수확, 채집, 또는 제형화하기까지 시간량은 (약) 2일, 3일 또는 4일이거나 그 미만이다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션의 개시부터 세포를 수확, 채집, 또는 제형화하기까지 시간량은 48시간 $\pm$ 6시간, 72시간 $\pm$ 6시간, 또는 96시간 $\pm$ 6시간이다. 구체적인 구현예에서, 인큐베이션의 개시부터 세포를 수확, 채집, 또는 제형화하기까지 시간량은 (약) 96시간 또는 4일이거나 그 미만이다.

[0634] 구체적인 구현예에서, 세포는 본원에 또는 본원에 참조로 포함된 문헌[PCT/US2018/064627]에 기술된 것과 같은 무혈청 배지에서 수확, 채집, 또는 제형화된다. 일부 구현예에서, 세포는 인큐베이션 동안 사용된 것과 동일한 무혈청 배지 내로 수확, 채집, 또는 제형화된다.

[0635] 구체적인 구현예에서, 세포는 하나 이상의 재조합 사이토카인을 함유하지 않고 혈청 성분을 함유하지 않지만, 하나 이상의 추가 성분을 함유할 수 있는, 기본 배지, 즉 무혈청 배지에서 수확, 채집 또는 제형화된다. 구체적인 구현예에서, 이러한 무혈청 배지의 사용은 세포의 유지를 제공하지만 세포를 활성화하거나 세포가 대사적으로 활성이 되게 하여 세포를 휴지 또는 정지 상태이거나 그 상태일 가능성이 있는 상태로 세포를 양성할 수 있는 특정 인자들을 포함하지 않는 희박 배지를 제공한다. 일부 측면에서, 이러한 무혈청 배지의 존재 하에서 인큐베이션은 자극 및 유전자 조작 (예를 들어, 형질도입) 후에 세포가 회복되거나 휴지되도록 한다. 일부 측면에서, 이러한 무혈청 배지의 존재 하에서 세포를 수확, 채집, 또는 제형화하면, 예를 들어, 수확된/제형화된 세포를 냉동 보존하고 이후 사용하기 바로 전에 해동할 때, 손상 또는 생존력의 손실에 덜 민감한 세포를 함유하는 산출 조성물의 제형화를 초래한다. 일부 구현예에서, 해동될 때 상기 산출 조성물 내 세포는 유사한 배지만 하나 이상의 재조합 사이토카인, 혈청 또는 세포가 산출 조성물의 냉동 보존 시 더 대사적으로 활성이 되게 할 수 있는 다른 인자들을 함유한 배지에서 인큐베이션된 세포보다 더 낮은 수준의 카스파제 또는 다른 세포자멸사 표지자를 갖는다.

[0636] 특정 구현예에서, 하나 이상의 농축된 T 세포 집단이 제형화된다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 농축된 T 세포 집단은 하나 이상의 집단이 조작 및/또는 인큐베이션된 후에 제형화된다. 구체적인 구현예에서, 하나 이상의 집단은 투입 집단이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 투입 집단은 이전에 동결 보호 및 저장되었다가, 인큐베이션 전에 해동된다.

[0637] 특정 구현예에서, 세포는 적어도 통합 벡터가 게놈 내에서 검출될 때 수확 또는 채집된다. 일부 구현예에서, 세포는 2배체 게놈 당 안정적 통합 벡터 카피수(iVCN) 전에 수확 또는 채집된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 통합 벡터가 게놈 내에서 검출된 후에 하지만 2배체 게놈 당 안정적 iVCN이 달성되기 전에 수확 또는 채집된다.

[0638] 일부 구현예에서, 세포는 iVCN이 2배체 게놈 당 (약) 또는 적어도 5.0, 4.0, 3.0, 2.5, 2.0, 1.75, 1.5, 1.25, 1.2, 1.1, 1.0, 0.9, 0.8, 0.75, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 또는 0.25개 카피에 도달하기 전에 수확 또는 채집된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 iVCN이 2배체 게놈 당 (약) 1.0개 카피에 도달하기 전에 수확 또는 채집된다. 일부 구현예에서, 세포는 iVCN이 2배체 게놈 당 (약) 0.5개 카피에 도달하기 전에 채집 또는 수확된다.

[0639] 특정 구현예에서, 세포는 세포 집단의 (약) 또는 적어도 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 8회, 10회, 20회, 또는 그 이상의 세포 배가, 예를 들어 인큐베이션 중에 일어나는 배가 전에 수확된다.

[0640] 구체적인 구현예에서, 세포는 세포의 총 수, 예를 들어 인큐베이션된 세포 또는 인큐베이션을 거친 세포의 총 수가 투입 집단의 세포의 수, 예를 들어, 자극 시약과 접촉한 세포의 총 수의 (약) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 20배보다 크거나 20배 이상보다 크게 되기 전 시점에 수확 또는 채집된다. 일부 구현예에서, 세포는 인큐베이션된 세포의 총 수가 형질전환, 형질도입, 또는 회전 접촉된 세포의 총 수, 예를 들어, 바이러스 벡터와 접촉한 세포의 총 수의 (약) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 20배보다 크거나 20배 이상보다 크게 되기 전 시점에 수확 또는 채집된다. 특정 구현예에서, 세포는 T 세포, 생존 T 세포, CD3+ T 세포, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, CAR 발현 T 세포, 또는 상기 중 임의의 것의 조합이다. 구체적인 구현예에서, 세포는 세포의 총 수가 투입 집단의 세포의 총 수보다 커지기 전 시점에 수확 또는 채집된다. 다양한 구현예에서, 세포는 생존 CD3+ T 세포의 총 수가 투입 집단의 생존 CD3+ 세포의 총 수보다 커지기 전 시점에 수확 또는 채집된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 세포의 총 수가 형질전환, 형질도입, 또는 회전 접촉된 세포의 총 수보다 커지기 전 시점에 수확 또는 채집된다. 다양한 구현예에서, 세포는 생존 CD3+ T 세포의 총 수가 형질전환, 형질도입, 또는 회전 접촉된 생존 CD3+ 세포의 총 수보다 커지기 전 시점에 수확 또는 채집된다. 다양한 구현예에서, 세포는 생존 CD4+ 세포 및 CD8+ 세포의 총 수가 투입 집단의 생존 CD4+ 세포 및 CD8+ 세포의 총 수보다 커지기 전 시점에 수확 또는 채집된다. 구체적

인 구현예에서, 세포는 세포의 총 수가 형질전환, 형질도입, 또는 회전 접종된 세포의 총 수보다 커지기 전 시점에 수확 또는 채집된다. 다양한 구현예에서, 세포는 생존 CD4+ 세포 및 CD8+ 세포의 총 수가 형질전환, 형질도입, 또는 회전 접종된 세포의 생존 CD4+ 세포 및 CD8+ 세포의 총 수보다 커지기 전 시점에 수확 또는 채집된다.

[0641] 특정 구현예에서, 본 공정은 수확 또는 채집 동안 또는 후에, 예를 들어, 필터(예를 들어, 40 μm 필터)를 사용하여, 예를 들어 큰 미립자를 제거하기 위해, 세포 조성물을 여과하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 여과하는 단계는 세포가 수확 또는 채집되는 동안 수행된다. 예를 들면, 필터는 형질도입 후 인큐베이션되는 세포 및 수확/채집 디바이스, 예컨대 Sepax® 또는 Sepax 2® 세포 처리 시스템들 사이에서 인-라인될 수 있다. 특정 구현예에서, 세포는 수확 또는 채집되고 이어서 여과된 조성물이 선택적으로 세척되기 전에 여과된다. 특정 구현예에서, 세포는 수확 또는 채집되고, 세척되고 세척된 세포 조성물이 여과된다.

[0642] 특정 구현예에서, 제형화된 세포는 산출 세포이다. 일부 구현예에서, 농축된 T 세포의 제형화된 집단은 농축된 T 세포의 산출 집단이다. 구체적인 구현예에서, 제형화된 CD4+ T 세포 및 제형화된 CD8+ T 세포는 산출 CD4+ T 세포 및/또는 CD8+ T 세포이다. 구체적인 구현예에서, 제형화된 세포 집단, 예를 들어, 농축된 CD4+ 및 CD8+ 세포의 제형화된 집단은 산출 세포 집단, 예를 들어, 농축된 CD4+ 및 CD8+ 세포의 산출 집단이다.

[0643] 일부 구현예에서, 세포는 백(bag)이나 바이알 같은 용기 내로 제형화될 수 있다. 일부 구현예에서, 바이알은 주입 바이알일 수 있다. 일부 구현예에서, 바이알은 조각된 세포의 단일 단위 용량으로, 예컨대 주어진 용량 또는 이의 분획으로 투여하기 위한 세포의 수를 포함하여 제형화된다.

[0644] 일부 구현예에서, 세포는 약학적으로 허용 가능한 완충제로 제형화되며, 이는 일부 측면에서, 약학적으로 허용 가능한 운반체 또는 부형제를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 가공은 대상체에 투여하기에 약학적으로 허용 가능하거나 바람직한 배지 또는 제형 완충제로 배지를 교환하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 가공 단계는 하나 이상의 선택적인 약학적으로 허용 가능한 운반체 또는 부형제를 포함할 수 있는 약학적으로 허용 가능한 완충제에서 세포를 교체하기 위해 형질도입 및/또는 증폭된 세포를 세척하는 것을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 운반체 또는 부형제를 포함한 상기 약학적 형태의 예시는 대상체에 세포 및 조성물을 투여하기에 허용 가능한 형태와 함께 아래에 기재된 임의의 것일 수 있다. 일부 구현예에서 약학 조성물은 치료적 유효량 또는 예방적 유효량과 같이 질병 또는 병태를 치료 또는 예방하기에 효과적인 양으로 세포를 함유한다.

[0645] “약학적으로 허용 가능한 운반체(pharmaceutically acceptable carrier)”는 활성 성분 외의 약학적 제형 안에 있는 성분을 지칭하고, 이는 대상체에 무독성이다. 약학적으로 허용 가능한 운반체는 완충제, 부형제, 안정제 또는 보존제를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0646] 일부 측면에서, 운반체의 선택은 특정 세포 및/또는 투여 방법에 의해 부분적으로 결정된다. 따라서, 적합한 제형이 다양하게 존재한다. 예를 들어, 약학 조성물은 보존제를 함유할 수 있다. 적합한 보존제는 예를 들어, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 벤조산 나트륨 및 염화 벤잘코늄을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 둘 이상의 보존제의 혼합물이 사용된다. 보존제 또는 이의 혼합물은 통상적으로 전체 조성물의 약 0.0001 중량% 내지 약 2 중량%의 양으로 존재한다. 운반체는, 예를 들어, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 기술되어 있다. 약학적으로 허용 가능한 운반체는 사용된 용량 및 농도에서 일반적으로 수용자(recipient)에게 무독성이며, 인산염, 구연산염 및 기타 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함한 항산화제; 보존제(예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 염화 벤잘코늄; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로 헥사놀; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10 잔기 미만) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 글루코스, 마노스 또는 텍스트린을 포함하는 당당류, 이당류 및 다른 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨과 같은 설탕; 나트륨과 같은 염 형성 반대 이온; 금속 복합체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온 계면활성제를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0647] 일부 측면에서 완충제가 조성물에 포함된다. 적합한 완충제에는 예를 들어, 구연산, 구연산 나트륨, 인산, 인산 칼륨 및 다양한 다른 산 및 염이 포함된다. 일부 측면에서, 둘 이상의 완충제의 혼합물이 사용된다. 완충제 또는 이의 혼합물은 통상적으로 전체 조성물의 약 0.001 중량% 내지 약 4 중량%의 양으로 존재한다. 투여 가능한 약학 조성물의 조제 방법은 알려져 있다. 예시적인 방법이 예를 들어, 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005)]에 보다 상세하게 기술되어

있다.

- [0648] 제형에는 수용액이 포함될 수 있다. 제형 또는 조성물은 또한 세포, 바람직하게는 세포에 상보적인 활성을 가진 것으로 치료될 특정 증상, 질병 또는 병태에 유용한 하나 이상의 활성 성분을 함유할 수 있으며, 여기서 각각의 활성이 서로 악영향을 미치지 않는다. 상기 활성 성분은 의도된 목적에 효과적인 양으로 조합하여 적합하게 존재한다. 따라서, 일부 구현예에서, 약학 조성물은 화학 요법제, 예를 들어, 아스파라기나아제, 부설판, 카보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 젬시타빈, 히드록시우레아, 메토트렉세이트, 파클리탁셀, 리톡시맙, 빈블라스틴 및/또는 빈크리스틴 등과 같은 다른 약학적 활성제 또는 약물을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 제제 또는 세포는 염, 예를 들어, 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 투여된다. 적합한 약학적으로 허용 가능한 산 부가 염은 염산, 브롬화 수소산, 인산, 메타인산, 질산 및 황산과 같은 무기산, 및 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 말산, 락트산, 푸마르산, 벤조산, 글리콜산, 글루콘산, 숙신산 및 아릴술폰산, 예를 들어 p-톨루엔술폰산과 같은 유기산으로부터 유래된 것을 포함한다.
- [0649] 일부 구현예에서 약학 조성물은 치료적 유효량 또는 예방적 유효량과 같이 질병 또는 병태를 치료 또는 예방하기에 효과적인 양으로 제제 또는 세포를 함유한다. 일부 구현예에서 치료적 또는 예방적 효능은 치료받은 대상체의 주기적인 평가에 의해 모니터링된다. 병태에 따라 며칠 또는 그 이상에 걸쳐 반복 투여되는 경우, 질병 증상의 원하는 억제 발생을 때까지 치료가 반복된다. 그러나, 다른 투여량 요법이 유용할 수 있고 결정될 수 있다. 바람직한 투여량이 조성물의 단일 볼루스 투여, 조성물의 다중 볼루스 투여 또는 조성물의 지속적인 주입 투여에 의해 전달될 수 있다.
- [0650] 제제 또는 세포는, 임의의 적합한 수단, 예를 들어 볼루스 주입, 주사, 예를 들어 정맥내 또는 피하 주사, 안구내(intraocular) 주사, 안구주위(periorcular) 주사, 망막하(subretinal) 주사, 유리체내(intravitreal) 주사, 중격-경유성(trans-septal) 주사, 공막하(subscleral) 주사, 맥락막내(intrachoroidal) 주사, 전방내(intracameral) 주사, 결막하 주사(subconjunctival injection, subconjunctival injection), 서브 테논(sub-Tenon) 주사, 안구뒤(retrobulbar) 주사, 안구주위(peribulbar) 주사 또는 후부 점막 주사(posterior juxtasclear) 전달에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 이들은 비경구, 폐내 및 비강내 및 국소 치료가 바람직한 경우 병변내 투여에 의해 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 주어진 용량이 세포 또는 제제의 단일 볼루스 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 이는 예를 들어, 3일 이내의 기간에 걸쳐 세포 또는 제제의 다중 볼루스 투여에 의해, 또는 세포 또는 제제의 지속적인 주입 투여에 의해 투여된다.
- [0651] 질병의 예방 또는 치료를 위한, 적절한 투여량은 치료될 질병의 유형, 제제의 유형, 세포 또는 재조합 수용체의 유형, 질병의 중증도 및 진행 경과, 제제 또는 세포가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지, 선행 요법, 대상체의 임상 이력과 제제 또는 세포에 대한 반응, 및 주치의의 재량에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서 조성물은 한 번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 대상체에 적합하게 투여된다.
- [0652] 세포 또는 제제는 표준 투여 기술, 제형 및/또는 디바이스를 사용하여 투여될 수 있다. 조성물의 저장 및 투여를 위해 주사기 및 바이알과 같은 제형 및 디바이스가 제공된다. 세포에 관하여, 투여는 자가 조직 또는 이종 기원일 수 있다. 예를 들어, 면역 반응성 세포 또는 전구체(progenitor)는 하나의 대상체로부터 수득될 수 있고, 동일한 대상체 또는 상이하고, 양립 가능한 대상체에 투여될 수 있다. 말초 혈액 유래 면역 반응성 세포 또는 이의 자손(예를 들어, 생체 내, 생체 외 또는 시험관 내 유래)은 카테터 투여, 전신 주사, 국소 주사, 정맥내 주사 또는 비경구 투여를 포함하는 국소 주사를 통해 투여될 수 있다. 치료용 조성물(예를 들어, 신경 독성의 증상을 치료 또는 개선하는 유전자 변형 면역 반응성 세포 또는 제제를 함유하는 약학 조성물)을 투여할 때, 일반적으로 이는 주사 가능한 단위 투여량 형태(용액, 현탁액, 에멀션)로 제형화될 것이다.
- [0653] 제형에는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 폐, 경피, 근육내, 비강내, 볼, 설하 또는 좌약 투여를 위한 것이 포함된다. 일부 구현예에서, 제제 또는 세포 집단은 비경구적으로 투여된다. 본원에서 사용되는 용어 “비경구(parenteral)”는 정맥내, 근육내, 피하, 직장, 질 및 복강내 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 제제 또는 세포 집단은 정맥내, 복강내 또는 피하 주사에 의한 말초 전신 전달을 사용하여 대상체에 투여된다.
- [0654] 일부 구현예에서 조성물은 멸균 액체 제제로서, 예를 들어, 등장성 수용액, 현탁액, 에멀션, 분산액 또는 점성 조성물로 제공되며, 이는 일부 측면에서 선택된 pH로 완충될 수 있다. 액체 조제품은 일반적으로 겔, 다른 점성 조성물 및 고체 조성물보다 조제하기가 보다 용이하다. 또한, 액체 조성물은 특히 주사에 의해 투여하기가 다소 더 편리하다. 반면에, 점성 조성물은 적절한 점도 범위 내에서 제형화되어 특정 조직과의 보다 긴 접촉 기간을 제공할 수 있다. 액체 또는 점성 조성물은 예를 들어, 물, 식염수, 인산 완충 식염수, 폴리올(예를 들어, 글리

세룰, 프로필렌 글리콜, 액상 폴리에틸렌 글리콜) 및 이의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 배지일 수 있는 운반체를 포함할 수 있다.

- [0655] 멸균 주사용 용액은 적합한 멸균수, 생리 식염수, 포도당, 텍스트로스 등과 같은 부형제, 운반체 또는 희석제와 혼합하는 것과 같이 용매에 제제 또는 세포를 통합함으로써 제조될 수 있다.
- [0656] 생체 내 투여에 사용될 제형은 일반적으로 멸균된다. 멸균은 예를 들어, 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성될 수 있다.
- [0657] 일부 구현예에서, 투여되는 세포의 용량은 냉동 보존된 조성물 내에 있다. 일부 측면에서, 조성물은 냉동 보존된 조성물을 해동한 후에 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물은 해동 후 (약) 30분, 45분, 60분, 90분, 120분, 150분 또는 180분 내에 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물은 해동 후 (약) 120분 내에 투여된다.
- [0658] 일부 구현예에서, 세포의 용량은 주사기로 투여된다. 일부 구현예에서, 주사기는 (약) 0.5, 1, 2, 2.5, 3, 4, 5, 7.5, 10, 20 또는 25mL, 또는 전술한 수치 중 임의의 것에 의해 정의되는 범위의 부피를 갖는다.
- [0659] 제조합 수용체를 발현하는 조작된 세포 또는 이의 조성물을 함유하는 제조품 및 키트, 및 선택적으로 사용 지침, 예를 들어, 제공된 방법에 따라 투여하기 위한 지침이 또한 제공된다. 일부 구현예에서, 상기 지침은 제공된 임의의 방법에 따른 요법을 위한 대상체의 선택 또는 식별을 위한 기준을 명시한다.
- [0660] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 임의의 조작된 세포의 치료적 유효량을 포함하는 조성물을 포함하는 제조품 및/또는 키트, 및 질병 또는 병태를 치료하기 위해 대상체에 투여하기 위한 지침이 제공된다. 일부 구현예에서, 상기 지침은 본원에 제공되는 방법의 구성요소 중 일부 또는 전부를 명시할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 지침은 세포 요법을 위한 세포의 투여를 위한 특정 지침, 예를 들어, 투여할 용량, 시기, 대상체의 선택 및/또는 식별 및 투여 조건을 명시한다. 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 하나 이상의 추가 요법제, 예를 들어, 림프구 고갈 요법 및/또는 병용 요법, 예컨대 본원에 기술된 임의의 것을 더 포함하고 선택적으로 추가 요법제를 투여하기 위한 지침을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 림프구 고갈 요법제를 더 포함하고, 선택적으로 림프구 고갈 요법을 투여하기 위한 지침을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 지침은 투여용 조성물에 첨부되는 라벨 또는 포장 삽입물로 포함될 수 있다.
- [0661] 항균 보존제, 항산화제, 킬레이트제 및 완충제를 포함한, 조성물의 안정성 및 멸균성을 향상시키는 다양한 첨가제가 첨가될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 항균 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 및 소르브산에 의해 보장될 수 있다. 주사용 약학적 형태의 장기간 흡수는 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴의 사용에 의해 초래될 수 있다.
- [0662] 일부 구현예에서, 제형 완충제는 냉동 보존제를 함유한다. 일부 구현예에서, 세포는 1.0% 내지 30% DMSO 용액, 예컨대 5% 내지 20% DMSO 용액 또는 5% 내지 10% DMSO 용액을 함유하는 냉동 보존 용액으로 제형화된다. 일부 구현예에서, 냉동 보존 용액은 예를 들어, 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민(HSA) 또는 기타 적합한 세포 동결 배지를 함유하는 PBS이거나 이를 함유한다. 일부 구현예에서, 냉동 보존 용액은 예를 들어 적어도 또는 약 7.5% DMSO이거나 이를 함유한다. 일부 구현예에서, 가공 단계는 냉동 보존 용액에서 세포를 교체하기 위해 형질도입된 및/또는 증폭된 세포를 세척하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 세포는 최종 농도가 (약) 12.5%, 12.0%, 11.5%, 11.0%, 10.5%, 10.0%, 9.5%, 9.0%, 8.5%, 8.0%, 7.5%, 7.0%, 6.5%, 6.0%, 5.5%, 또는 5.0% DMSO, 또는 1% 내지 15%, 6% 내지 12%, 5% 내지 10%, 또는 6% 내지 8% DMSO인 배지 및/또는 용액에서 동결(예를 들어, 동결 보호 또는 냉동 보존)된다. 구체적인 구현예에서, 세포는 최종 농도가 (약) 5.0%, 4.5%, 4.0%, 3.5%, 3.0%, 2.5%, 2.0%, 1.5%, 1.25%, 1.0%, 0.75%, 0.5%, 또는 0.25% HSA, 또는 0.1% 내지 -5%, 0.25% 내지 4%, 0.5% 내지 2%, 또는 1% 내지 2% HSA인 배지 및/또는 용액에서 동결(예를 들어, 동결 보호 또는 냉동 보존)된다.
- [0663] 구체적인 구현예에서, 농축된 T 세포, 예를 들어 자극된, 조작된 및/또는 인큐베이션된 T 세포의 조성물은 제형화되고, 동결 보호된 후 일정 시간량 동안 저장된다. 특정 구현예에서, 제형화된 동결 보호된 세포는 그 세포가 주입을 위해 방출될 때까지 저장된다. 구체적인 구현예에서, 제형화된 동결 보호된 세포는 1일 내지 6개월, 1개월 내지 3개월, 1일 내지 14일, 1일 내지 7일, 3일 내지 6일, 6개월 내지 12개월 동안 또는 12개월을 초과하여 저장된다. 일부 구현예에서, 세포는 동결 보호되고 (약) 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일 또는 7일 동안 또는 그 미만 동안 저장된다. 특정 구현예에서, 세포는 저장 후 해동되고 대상체에 투여된다. 특정 구현예에서, 세포는 (약) 5일 동안 저장된다. 일부 구현예에서, 제형화된 세포는 냉동 보존되지 않는다.
- [0664] 일부 구현예에서, 제형화는 세포를 세척, 희석 또는 농축시키는 것을 포함하는 하나 이상의 가공 단계를 사용하

여 수행된다. 일부 구현예에서, 가공은 주어진 용량 또는 이의 분획으로 투여를 위한 세포의 수를 포함하는 단위 용량 형태 조성물과 같은 원하는 농도 또는 수로 세포의 희석 또는 농축을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 가공 단계는 부피 감소를 통해 원하는 대로 세포의 농도를 증가시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 가공 단계는 부피 추가를 통해 원하는 대로 세포의 농도를 감소시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 가공은 형질도입된 및/또는 인큐베이션된 세포에 일정 부피의 제형 완충제를 추가하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제형 완충제의 부피는 (약) 10mL 내지 1000mL, 예컨대 적어도 또는 적어도 (약) 50mL, 100mL, 200mL, 300mL, 400mL, 500mL, 600mL, 700mL, 800mL, 900mL 또는 1000mL이다.

[0665] 일부 구현예에서, 세포 조성물을 제형화하기 위한 상기 가공 단계는 폐쇄 시스템에서 수행된다. 예시적인 상기 가공 단계는 Sepax® 또는 Sepax 2® 세포 처리 시스템과 함께 사용하기 위한 것을 포함하여 Biosafe SA에 의해 생산 및 판매되는 원심분리 챔버와 같은 세포 처리 시스템과 관련된 하나 이상의 시스템 또는 키트와 함께 원심분리 챔버를 사용하여 수행될 수 있다. 예시적인 시스템 및 공정이 문헌[국제 공개 번호 W02016/073602]에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본 방법은 기재된 바와 같이, 상기 구현예 중 어느 하나에서 제형 완충제, 예컨대 약학적으로 허용 가능한 완충제에서 제형화된 세포의 생성된 조성물인 제형화된 조성물을 원심분리 챔버의 내부 공동으로부터 발현을 달성하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제형화된 조성물의 발현은 원심분리 챔버를 가진 폐쇄 시스템의 일부로서 작동 가능하게 연결된 용기, 예컨대 백으로 이루어진다. 일부 구현예에서, 백 등의 용기는 시스템의 출력 라인 또는 출력 위치에 연결된다.

[0666] 일부 구현예에서, 예컨대 원심분리 챔버 또는 세포 처리 시스템에 결합된, 폐쇄 시스템은, 하나 또는 다수의 용기가 제형화된 조성물의 발현을 위해 연결될 수 있는 포트를 가진 튜브 라인의 각 끝에 결합된 다방향 튜브 매니폴드를 함유하는 다중 포트 출력 키트를 포함한다. 일부 측면에서, 원하는 수 또는 다수의 출력 용기(예를 들어, 백)는 다중 포트 출력 중 하나 이상, 일반적으로 둘 이상, 예컨대 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8 이상의 포트에 평균적으로 연결될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 하나 이상의 용기(예를 들어, 백)는 포트들에 또는 모든 포트 수 미만 포트에 부착될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 시스템은 다수의 산출 백 내로 산출 조성물의 발현을 달성할 수 있다.

[0667] 일부 측면에서, 세포는 다수의 산출 백들 중 하나 이상에 예컨대 단일 단위 투여량 투여 또는 다수 투여량 투여를 위해, 투여량 투여를 위한 용량으로, 발현될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 산출 백은 주어진 용량 또는 이의 분획으로 투여하기 위한 세포의 수를 함유할 수 있다. 따라서, 일부 측면에서, 각 백은 투여를 위한 단일 단위 용량을 함유할 수 있거나 다수의 산출 백 중 하나보다 많은 수가, 예컨대 산출 백들 중 둘이, 또는 산출 백들 중 셋이 함께 투여를 위한 용량을 구성하도록 원하는 용량의 분획을 함유할 수 있다.

[0668] 따라서, 용기(예를 들어, 산출 백)는 일반적으로 투여될 세포, 예를 들어, 이의 하나 이상의 단위 용량을 함유한다. 단위 용량(unit dose)은 대상체에게 투여될 세포의 양 또는 수이거나 또는 투여될 세포의 수의 두배(또는 그 이상)일 수 있다. 이는 대상체에게 투여될 세포의 최저 용량 또는 가능한 최저 용량일 수 있다.

[0669] 일부 구현예에서, 용기(예를 들어, 백)의 각각은 개별적으로 세포의 단위 용량을 포함한다. 따라서 일부 구현예에서, 각 용기는 동일한 또는 대략 또는 실질적으로 동일한 수의 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 각 단위 용량은 적어도 또는 약 적어도 1×10^6 , 2×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 또는 1×10^8 개의 조작된 세포, 총 세포, T 세포, 또는 PBMC를 함유한다. 일부 구현예에서, 각 백 내 제형화된 세포 조성물의 부피는 10mL 내지 100mL, 예컨대 적어도 또는 약 적어도 20mL, 30mL, 40mL, 50mL, 60mL, 70mL, 80mL, 90mL 또는 100mL이다.

[0670] 일부 구현예에서, 본 방법에 의해 생산된 상기 세포 또는 상기 세포를 포함하는 조성물은 질병 또는 병태를 치료하기 위해 대상체에게 투여된다.

[0671] III. 조성물 및 제형

[0672] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체(CAR), 예를 들어 인간 BCMA를 표적화하는 CAR 등의 항-BCMA CAR을 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 조성물은 T 세포가 농축된 치료용 조성물, 예를 들어, 산출 조작된 세포 및/또는 본원에 예를 들어 섹션 II-C에 개시된 조작된 T 세포를 포함하는 산출 조성물을 생성 또는 생산하기 위한 공정을 사용하여 제조된, CD3+ T 세포가 농축된 조성물 또는 CD4+ 및 CD8+ T 세포가 농축된 조성물이다. 일부 구현예에서, 조작된 T 세포는 조작성물, 제형, 또는 용량으로, 예컨대 약학 조성물, 제형 또는 용량으로 제공된다. 상기 조성물, 제형 또는 용량은 제공된 방법 또는 용도, 및/또는 제공된 제제품 또는 조성물에 부합되게, 예컨대 질병, 병태 및 장애의 예방 또는 치료에, 또는 검출, 진단, 및 예후 방법에 사용될 수 있다.

- [0673] 구체적 구현예에서, 항-BCMA CAR을 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물은 CD3+ T 세포가 농축되어 있다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 98%, 적어도 또는 약 98.5%, 적어도 또는 약 99%, 적어도 또는 약 99.5%, 적어도 또는 약 99.9%, 100%, 또는 약 100%는 CD3+, 예를 들어, CD3+ T 세포 또는 CAR+CD3+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 (약) 75% 내지 80%, (약) 80% 내지 85%, (약) 85% 내지 90%, (약) 90% 내지 95%, (약) 95% 내지 99%는 CD3+, 예를 들어, CD3+ T 세포 또는 CAR+CD3+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 (약) 80%, (약) 81%, (약) 82%, (약) 83%, (약) 84%, (약) 85%, (약) 86%, (약) 87%, (약) 88%, (약) 89%, (약) 90%, (약) 91%, (약) 92%, (약) 93%, (약) 94%, (약) 95%, (약) 96%, (약) 97%, (약) 98%, 또는 (약) 99%는 CD3+, 예를 들어, CD3+ T 세포 또는 CAR+CD3+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 약 80% 내지 100%, 약 85% 내지 99%, 약 88% 내지 98%, 약 96% 내지 99%, 또는 약 97% 내지 99%는 CD3+, 예를 들어, CD3+ T 세포 또는 CAR+CD3+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물은 CD3+ T 세포로 구성되거나 이를 필수적으로 포함하여 구성된다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포의 적어도 또는 약 80%는 CD3+ T 세포이고 조성물 중 총 세포의 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 90%, 또는 적어도 또는 약 95%는 항-BCMA CAR을 발현한다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 98% 또는 적어도 또는 약 99%는 CD3+이고 조성물 중 총 세포의 적어도 또는 약 40% 또는 적어도 또는 약 50%는 항-BCMA CAR을 발현한다.
- [0674] 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 (약) 2.5% 미만, (약) 2% 미만, (약) 1.5% 미만, (약) 1% 미만, (약) 0.5% 미만, (약) 0.4% 미만, (약) 0.3% 미만, (약) 0.2% 미만, (약) 0.1% 미만, (약) 0.05% 미만, 또는 (약) 0%는 NK 세포 표지자의 발현에 대해 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 (약) 2.5% 내지 (약) 2%, (약) 2% 내지 (약) 1.5%, (약) 1.5% 내지 (약) 1%, (약) 1% 내지 (약) 0.5%, (약) 0.5% 내지 (약) 0.4%, (약) 0.4% 내지 (약) 0.3%, (약) 0.3% 내지 (약) 0.2%, (약) 0.2% 내지 (약) 0.1%, (약) 0.1% 내지 (약) 0.05%, (약) 0.05% 미만, 또는 (약) 0%는 NK 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 (약) 1.5% 내지 (약) 0%, 또는 (약) 0.5% 내지 (약) 0%는 NK 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물은 NK 세포 또는 NK 세포 표지자의 발현에 대해 양성인 세포가 없거나 본질적으로 없다.
- [0675] 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 (약) 0.2% 미만, (약) 0.15% 미만, (약) 0.1% 미만, (약) 0.05% 미만, (약) 0.01% 미만, 또는 (약) 0%는 CD19+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 (약) 0.2% 내지 0.15%, (약) 0.15% 내지 0.1%, (약) 0.1% 내지 0.05%, (약) 0.05% 내지 0.01%, (약) 0.01% 미만, 또는 (약) 0%는 CD19+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 (약) 0.1% 내지 (약) 0%, 또는 (약) 0.05% 내지 (약) 0%는 CD19+이다. 일부 구현예에서, 조성물은 CD19+ 세포가 없거나 본질적으로 없다.
- [0676] 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 적어도 또는 약 80%는 CD3+이고, 조성물 중 총 세포의 적어도 또는 약 40%는 항-BCMA CAR을 발현하고, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 약 1.5% 미만은 NK 세포 또는 NK 세포 표지자의 발현에 대해 양성인 세포이고, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 약 0.1% 미만은 BCMA+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 적어도 또는 약 96%는 CD3+이고, 조성물 중 총 세포의 적어도 또는 약 50%는 항-BCMA CAR을 발현하고, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 약 0.5% 미만은 NK 세포 또는 NK 세포 표지자의 발현에 대해 양성인 세포이고, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 약 0.05% 미만은 BCMA+이다.
- [0677] 구체적 구현예에서, 항-BCMA CAR을 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물은 CD4+ 및 CD8+ T 세포가 농축

되어 있다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 98%, 적어도 또는 약 98.5%, 적어도 또는 약 99%, 적어도 또는 약 99.5%, 적어도 또는 약 99.9%, 100%, 또는 약 100%는 CD4+ 또는 CD8+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 (약) 75% 내지 80%, (약) 80% 내지 85%, (약) 85% 내지 90%, (약) 90% 내지 95%, 또는 (약) 95% 내지 (약) 99%는 CD4+ 또는 CD8+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 (약) 80%, (약) 81%, (약) 82%, (약) 83%, (약) 84%, (약) 85%, (약) 86%, (약) 87%, (약) 88%, (약) 89%, (약) 90%, (약) 91%, (약) 92%, (약) 93%, (약) 94%, (약) 95%, (약) 96%, (약) 97%, (약) 98%, 또는 (약) 99%는 CD4+ 또는 CD8+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 약 80% 내지 100%, 약 85% 내지 99%, 약 88% 내지 98%, 약 96% 내지 99%, 또는 약 97% 내지 99%는 CD4+ 또는 CD8+이다. 일부 구현예에서, 조성물은 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포로 구성되거나 이를 필수적으로 포함하여 구성된다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포의 적어도 또는 약 80%는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포이고 조성물 중 총 세포의 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 90%, 또는 적어도 또는 약 95%는 항-BCMA CAR을 발현한다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 98% 또는 적어도 또는 약 99%는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포이고 조성물 중 총 세포의 적어도 또는 약 40% 또는 적어도 또는 약 50%는 항-BCMA CAR을 발현한다.

[0678] 구체적인 구현예에서, CD3+CD4+ 세포는 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 98%, 적어도 또는 약 98.5%, 적어도 또는 약 99%, 적어도 또는 약 99.5%, 적어도 또는 약 99.9%, 100%, 또는 약 100%를 차지한다. 구체적인 구현예에서, CD3+CD4+ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 (약) 50% 내지 (약) 70%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, (약) 60% 내지 (약) 65%, 또는 (약) 65% 내지 (약) 70%를 차지한다.

[0679] 구체적인 구현예에서, CD3+CD8+ 세포는 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 35%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 45%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 55%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 98%, 적어도 또는 약 98.5%, 적어도 또는 약 99%, 적어도 또는 약 99.5%, 적어도 또는 약 99.9%, 100%, 또는 약 100%를 차지한다. 구체적인 구현예에서, CD3+CD8+ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 (약) 30% 내지 (약) 50%, (약) 30% 내지 (약) 35%, (약) 35% 내지 (약) 40%, (약) 40% 내지 (약) 45%, 또는 (약) 45% 내지 (약) 50%를 차지한다.

[0680] 구체적인 구현예에서, CD3+CD4+ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 약 55% 내지 약 65%를 차지하고, CD3+CD8+ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 약 35% 내지 45%를 차지한다. 구체적인 구현예에서, CD3+CD4+ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 약 60%를 차지하고, CD3+CD8+ 세포는 약 40%를 차지한다.

[0681] 구체적인 구현예에서, CAR+CD3+ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3+ 세포)는 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45+ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 적어도 또는 약 20%, 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 98%, 적어도 또는 약 98.5%, 적어도 또는 약 99%, 적어도 또는 약 99.5%, 적어도 또는 약 99.9%, 100%, 또는 약 100%를 차지한다. 구체적인 구현예에서, CAR+CD3+ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3+ 세포)는 조성물 중 총 살아있는 CD45+ 세포의 (약) 40% 내지 (약) 100%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, (약) 60% 내지 (약) 65%, (약) 65% 내지 (약) 70%, (약) 70% 내지

(약) 75%, (약) 75% 내지 (약) 80%, (약) 80% 내지 (약) 85%, (약) 85% 내지 (약) 90%, (약) 90% 내지 (약) 95%, 또는 (약) 95% 내지 (약) 99%를 차지한다.

[0682] 구체적 구현예에서, CAR+CD4⁺ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD4⁺ 세포)는 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45⁺ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 적어도 또는 약 20%, 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 98%, 적어도 또는 약 98.5%, 적어도 또는 약 99%, 적어도 또는 약 99.5%, 적어도 또는 약 99.9%, 100%, 또는 약 100%를 차지한다. 구체적 구현예에서, CAR+CD4⁺ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD4⁺ 세포)는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 (약) 20% 내지 (약) 60%, (약) 20% 내지 (약) 25%, (약) 25% 내지 (약) 30%, (약) 30% 내지 (약) 35%, (약) 35% 내지 (약) 40%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, 또는 (약) 55% 내지 (약) 60%를 차지한다.

[0683] 구체적 구현예에서, CAR+CD8⁺ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD8⁺ 세포)는 조성물 중 총 세포, 총 생존 세포, 총 살아있는 세포, 총 T 세포, 총 생존 T 세포, 총 살아있는 T 세포, 총 살아있는 CD45⁺ 세포, 또는 그의 CAR-발현 세포의 적어도 또는 약 10%, 적어도 또는 약 20%, 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 35%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 45%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 55%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 96%, 적어도 또는 약 98%, 적어도 또는 약 98.5%, 적어도 또는 약 99%, 적어도 또는 약 99.5%, 적어도 또는 약 99.9%, 100%, 또는 약 100%를 차지한다. 구체적 구현예에서, CAR+CD8⁺ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD8⁺ 세포)는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 (약) 5% 내지 (약) 35%, (약) 5% 내지 (약) 10%, (약) 10% 내지 (약) 15%, (약) 15% 내지 (약) 20%, (약) 20% 내지 (약) 25%, (약) 25% 내지 (약) 30%, 또는 (약) 30% 내지 (약) 35%를 차지한다.

[0684] 구체적 구현예에서, CAR+CD3⁺ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3⁺ 세포)는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 약 35% 내지 약 65%를 차지한다. 구체적 구현예에서, CAR+CD4⁺ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD4⁺ 세포)는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 약 25% 내지 약 55%를 차지하고, CAR+CD8⁺ 세포(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD8⁺ 세포)는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 약 10% 내지 30%를 차지한다. 구체적 구현예에서, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3⁺ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 약 50%를 차지한다. 구체적 구현예에서, CAR+CD4⁺ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 약 30%를 차지하고, CAR+CD8⁺ 세포는 약 20%를 차지한다. 구체적 구현예에서, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3⁺ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 약 60%를 차지한다. 구체적 구현예에서, CAR+CD4⁺ 세포는 조성물 중 총 살아있는 CD45⁺ 세포의 약 40%를 차지하고, CAR+CD8⁺ 세포는 약 20%를 차지한다.

[0685] 구체적 구현예에서, 조성물은 5:1 내지 1:5, 4:1 내지 1:4, 3:1 내지 1:3, 2.5:1 내지 1:2.5, 2:1 내지 1:2, 1.5:1 내지 1:1.5, 1.4:1 내지 1:1.4, 1.3:1 내지 1:1.3, 1.2:1 내지 1:1.2, 또는 1.1:1 내지 1:1.1의 CD4⁺ T 세포 대 CD8⁺ T 세포의 비를 함유한다. 일부 구현예에서, 세포의 조성물은 (약) 5:1, (약) 4:1, (약) 3:1, (약) 2.8:1, (약) 2.5:1, (약) 2.25:1, (약) 2:1, (약) 1.8:1, (약) 1.7:1, (약) 1.6:1, (약) 1.5:1, (약) 1.4:1, (약) 1.3:1, (약) 1.2:1, (약) 1.1:1, (약) 1:1, (약) 1:1.1, (약) 1:1.2, (약) 1:1.3, (약) 1:1.4, (약) 1:1.5, (약) 1:1.6, (약) 1:1.7, (약) 1:1.8, (약) 1:2, (약) 1:2.25, (약) 1:2.5, (약) 1:2.8, 또는 (약) 1:3의 CD4⁺ T 세포 대 CD8⁺ T 세포의 비를 갖는다. 구체적 구현예에서, 조성물은 4:1 내지 1:1 또는 4:1 내지 1:1의 CD4⁺ T 세포 대 CD8⁺ T 세포의 비를 함유한다.

[0686] 일부 구현예에서, 산출 조성물은 5:1 내지 1:5, 4:1 내지 1:4, 3:1 내지 1:3, 2.5:1 내지 1:2.5, 2:1 내지 1:2, 1.5:1 내지 1:1.5, 1.4:1 내지 1:1.4, 1.3:1 내지 1:1.3, 1.2:1 내지 1:1.2, 또는 1.1:1 내지 1:1.1의 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현하는 CD4⁺ T 세포 대 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현하는 CD8⁺ T 세포의 비를 함유한다. 일부 구현예에서, 산출 조성물 중 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현하는 CD4⁺ T 세포 대 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현하는 CD8⁺ T 세포의 비는 (약) 3:1, (약) 2.8:1, (약) 2.5:1, (약) 2.25:1, (약) 2:1, (약) 1.8:1, (약) 1.7:1, (약) 1.6:1, (약) 1.5:1, (약) 1.4:1, (약) 1.3:1, (약) 1.2:1, (약) 1.1:1, (약) 1:1, (약) 1:1.1, (약) 1:1.2, (약) 1:1.3, (약) 1:1.4, (약) 1:1.5, (약) 1:1.6, (약) 1:1.7, (약) 1:1.8, (약) 1:2, (약) 1:2.25, (약) 1:2.5, (약) 1:2.8, 또는 (약) 1:3이다. 구체적 구현예에서, 조성물은 5:1 내지 2:1 또는 약 5:1 내지 약 2:1의 CD4⁺CAR⁺ T 세포

대 CD8+CAR+ T 세포의 비를 함유한다.

[0687] 구체적 구현예에서, 조성물은 약 5:1 내지 약 1:2 또는 약 4:1 내지 약 1:1의 CD4+ T 세포 대 CD8+ T 세포의 비를 함유한다. 구체적 구현예에서, 조성물은 약 5:1 내지 약 1:2 또는 약 4:1 내지 약 1:1의 CD4+CAR+ T 세포 대 CD8+CAR+ T 세포의 비를 함유한다. 일부 구현예에서, 세포의 조성물은 (약) 1.5:1의 CD4+ T 세포 대 CD8+ T 세포의 비를 갖는다. 구체적 구현예에서, 조성물은 약 3:1 내지 약 1:1의 CAR+CD4+ 세포 대 CAR+CD8+ 세포의 비를 함유한다. 구체적 구현예에서, 조성물은 약 2.5:1 내지 약 1.5:1의 CAR+CD4+ 세포 대 CAR+CD8+ 세포의 비를 함유한다. 일부 구현예에서, 세포의 조성물은 (약) 2:1의 CAR+CD4+ 세포 대 CAR+CD8+ 세포의 비를 갖는다. 일부 구현예에서, 세포의 조성물은 (약) 1.5:1의 CD4+ T 세포 대 CD8+ T 세포의 비를 갖고, (약) 2:1의 CAR+CD4+ 세포 대 CAR+CD8+ 세포의 비를 갖는다.

[0688] 구체적 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 50%, 적어도 (약) 60%, 적어도 (약) 70%, 적어도 (약) 75%, 적어도 (약) 80%, 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 적어도 (약) 95%, 적어도 (약) 99%, 또는 적어도 (약) 99.9%의 생존 세포를 함유한다. 일부 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 75%의 생존 세포를 함유한다. 특정 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 또는 적어도 (약) 95%의 생존 세포를 함유한다. 일부 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 50%, 적어도 (약) 60%, 적어도 (약) 70%, 적어도 (약) 75%, 적어도 (약) 80%, 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 적어도 (약) 95%, 적어도 (약) 99%, 또는 적어도 (약) 99.9%의 생존 CD3+ T 세포를 함유한다. 구체적 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 75%의 생존 CD3+ T 세포를 함유한다. 특정 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 또는 적어도 (약) 95%의 생존 CD3+ T 세포를 함유한다. 일부 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 50%, 적어도 (약) 60%, 적어도 (약) 70%, 적어도 (약) 75%, 적어도 (약) 80%, 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 적어도 (약) 95%, 적어도 (약) 99%, 또는 적어도 (약) 99.9%의 생존 CD4+ T 세포를 함유한다. 특정 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 75%의 생존 CD4+ T 세포를 함유한다. 구체적 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 또는 적어도 (약) 95%의 생존 CD4+ T 세포를 함유한다. 구체적 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 50%, 적어도 (약) 60%, 적어도 (약) 70%, 적어도 (약) 75%, 적어도 (약) 80%, 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 적어도 (약) 95%, 적어도 (약) 99%, 또는 적어도 (약) 99.9%의 생존 CD8+ T 세포를 함유한다. 일부 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 75%의 생존 CD8+ T 세포를 함유한다. 특정 구현예에서, 조성물은 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 또는 적어도 (약) 95%의 생존 CD8+ T 세포를 함유한다.

[0689] 구체적 구현예에서, 조성물은 세포자멸사를 겪는 및/또는 조제된, 프라이밍된, 및/또는 진입하는 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 구체적 구현예에서, 조성물은 세포자멸 표지자에 양성인 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 조성물의 세포의 (약) 40% 미만, (약) 35% 미만, (약) 30% 미만, (약) 25% 미만, (약) 20% 미만, (약) 15% 미만, (약) 10% 미만, (약) 5% 미만, 또는 (약) 1% 미만은 세포자멸 표지자를 발현하고, 함유하고 및/또는 이에 대해 양성이다. 특정 구현예에서, 조성물의 세포의 (약) 25% 미만은 세포자멸사의 표지자를 발현하고, 함유하고 및/또는 이에 대해 양성이다. 특정 구현예에서, 조성물의 세포의 (약) 10% 미만은 세포자멸 표지자를 발현하고, 함유하고 및/또는 이에 대해 양성이다.

[0690] 구체적 구현예에서, 조성물의 항-BCMA CAR 발현 세포의 적어도 (약) 50%, 적어도 (약) 60%, 적어도 (약) 70%, 적어도 (약) 75%, 적어도 (약) 80%, 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 적어도 (약) 95%, 적어도 (약) 99%, 또는 적어도 (약) 99.9%는 생존 세포, 예를 들어, 카스파제(예를 들어, 활성화된 카스파제-3) 등의 세포자멸 표지자에 대해 음성인 세포이다. 특정 구현예에서, 조성물의 항-BCMA CAR 발현 세포의 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 또는 적어도 (약) 95%는 카스파제(예를 들어, 활성화된 카스파제-3) 등의 세포자멸 표지자에 대해 음성이다. 일부 구현예에서, 조성물의 CD3+ T 세포의 적어도 (약) 50%, 적어도 (약) 60%, 적어도 (약) 70%, 적어도 (약) 75%, 적어도 (약) 80%, 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 적어도 (약) 95%, 적어도 (약) 99%, 또는 적어도 (약) 99.9%는 생존 세포, 예를 들어, 카스파제(예를 들어, 활성화된 카스파제-3) 등의 세포자멸 표지자에 대해 음성인 세포이다. 특정 구현예에서, 조성물의 CD3+ T 세포의 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 또는 적어도 (약) 95%는 카스파제(예를 들어, 활성화된 카스파제-3) 등의 세포자멸 표지자에 대해 음성이다. 구체적 구현예에서, 조성물의 CD3+ T 세포의 적어도 (약) 90%는 생존 세포, 예를 들어, 카스파제(예를 들어, 활성화된 카스파제-3) 등의 세포자멸 표지자에 대해 음성인 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물의 CAR+CD3+ T 세포의 적어도 (약) 50%, 적어도 (약) 60%, 적어도 (약) 70%, 적어도 (약) 75%, 적어도 (약) 80%, 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 적어도 (약) 95%, 적어도 (약) 99%, 또는 적어도 (약) 99.9%는 생존 세포, 예를 들어, 카스파제(예를 들어, 활성화된 카스파제-3) 등의 세포자멸 표지자에 대해 음성인 세포이다. 구체적 구현예에서, 조성물의 항-BCMA CAR 발현 CD3+ T 세포의 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 또는 적어도 (약) 95%는 생존 세포

포, 예를 들어, 카스파제(예를 들어, 활성화된 카스파제-3) 등의 세포자멸 표지자에 대해 음성인 세포이다.

[0691] 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 T 세포, 총 CD45+ 세포, 총 CD3+ 세포, 총 CD4+ 및 CD8+ 세포 또는 그 의 CAR-발현 세포의 (약) 30% 미만, (약) 25% 미만, (약) 20% 미만, (약) 15% 미만, (약) 10% 미만, 또는 (약) 5% 미만은 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 일부 구현예에서, 조성물 중 총 세포, 총 T 세포, 총 CD45+ 세포, 총 CD3+ 세포, 총 CD4+ 및 CD8+ 세포, 또는 그 의 CAR-발현 세포 의 (약) 30% 내지 25%, (약) 25% 내지 20%, (약) 20% 내지 15%, (약) 15% 내지 10%, (약) 10% 내지 5%는 세포 자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다. 일부 구현예에서, 조성물 중 CD3+ 세포의 (약) 6%, (약) 8%, (약) 10%, (약) 12%, (약) 14%, (약) 16%, (약) 18%, (약) 20%, (약) 22%, (약) 24%, (약) 26%, (약) 28%, (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현한다.

[0692] 일부 구현예에서, 항-BCMA CAR을 발현하는 것은 세포막 및/또는 세포 표면에 국소화된 하나 이상의 재조합 수용체 단백질을 갖는 것, 검출 가능한 양의 재조합 수용체 단백질을 갖는 것, 재조합 수용체를 암호화하는 검출 가능한 양의 mRNA를 갖는 것, 재조합 수용체를 암호화하는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 갖거나 함유하는 것, 및/또는 재조합 수용체 발현에 대한 대리 표지자인 mRNA 또는 단백질을 갖거나 함유하는 것을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0693] 일부 구현예에서, 조성물의 세포의 적어도 또는 약 5%, 적어도 또는 약 10%, 적어도 또는 약 20%, 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 45%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 55%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 99%, 또는 99% 이상은 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현한다. 특정 구현예에서, 조성물의 세포의 적어도 또는 약 50%는 항-BCMA CAR을 발현한다. 특정 구현예에서, 조성물의 CD3+ T 세포의 적어도 또는 약 5%, 적어도 또는 약 10%, 적어도 또는 약 20%, 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 45%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 55%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 99%, 또는 99% 이상은 항-BCMA CAR을 발현한다. 일부 구현예에서, 조성물의 CD3+ T 세포의 적어도 또는 약 50%는 항-BCMA CAR을 발현한다. 특정 구현예에서, 조성물의 세포의 적어도 또는 약 5%, 적어도 또는 약 10%, 적어도 또는 약 20%, 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 45%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 55%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 99%, 또는 99% 이상은 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물의 세포의 적어도 또는 약 50%는 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3+ T 세포이다.

[0694] 일부 구현예에서, 조성물은 적어도 또는 약 0.2×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.3×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.4×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.5×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.6×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.7×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.8×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.9×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.1×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.2×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.3×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.4×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.5×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.6×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.7×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.8×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.9×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.1×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.2×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.3×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.4×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.5×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.6×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.7×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.8×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.9×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.1×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.2×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.3×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.4×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.5×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.6×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.7×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.8×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.9×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.1×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.2×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.3×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.4×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.5×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.6×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.7×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.8×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, $4.9 \times$

10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.1×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.2×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.3×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.4×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.5×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.6×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.7×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.8×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.9×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL, 또는 6×10^6 개 CD3+CAR+ 세포/mL(각 수치 포함)을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 적어도 또는 적어도 약 0.2×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.3×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.4×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.5×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.6×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.7×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.8×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 0.9×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.1×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.2×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.3×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.4×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.5×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.6×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.7×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.8×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 1.9×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.1×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.2×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.3×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.4×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.5×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.6×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.7×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.8×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 2.9×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.1×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.2×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.3×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.4×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.5×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.6×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.7×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.8×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 3.9×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.1×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.2×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.3×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.4×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.5×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.6×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.7×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.8×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 4.9×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.1×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.2×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.3×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.4×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.5×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.6×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.7×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.8×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 5.9×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL, 또는 6×10^6 개 생존 CD3+CAR+ 세포/mL(각 수치 포함)을 포함한다.

[0695] 구체적 구현예에서, 조성물의 CD4+ T 세포의 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 45%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 55%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 99%, 또는 99% 이상은 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현한다. 구체적 구현예에서, 조성물의 CD4+ T 세포의 적어도 또는 약 50%는 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현한다. 일부 구현예에서, 조성물의 CD8+ T 세포의 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 45%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 55%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 99%, 또는 99% 이상은 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현한다. 특정 구현예에서, 조성물의 CD8+ T 세포의 적어도 또는 약 50%는 재조합 수용체(예를 들어, 항-BCMA CAR)를 발현한다.

[0696] 일부 구현예에서, 조성물 중 살아있는 CD45+ 세포의 적어도 또는 약 5%, 적어도 또는 약 10%, 적어도 또는 약 20%, 적어도 또는 약 30%, 적어도 또는 약 40%, 적어도 또는 약 45%, 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 55%, 적어도 또는 약 60%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 75%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 99%, 또는 99% 이상은 CD3+CAR+(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3+ T 세포), CD4+CAR+(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현

하는 CD4+ T 세포), 및/또는 CD8+CAR+(예를 들어, 항-BCMA CAR을 발현하는 CD8+ T 세포)이다. 특정 구현예에서, 조성물 중 살아있는 CD45+ 세포의 적어도 또는 약 50%는 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 조성물 중 살아있는 CD45+ 세포의 (약) 60% 내지 (약) 65%는 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 조성물 중 살아있는 CD45+ 세포의 (약) 35% 내지 (약) 45%, (약) 35% 내지 (약) 40%, 또는 (약) 40% 내지 (약) 45%는 항-BCMA CAR을 발현하는 CD4+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 조성물 중 살아있는 CD45+ 세포의 (약) 15% 내지 (약) 25%, (약) 15% 내지 (약) 20%, 또는 (약) 20% 내지 (약) 25%는 항-BCMA CAR을 발현하는 CD8+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 조성물 중 살아있는 CD45+ 세포의 적어도 또는 약 60%는 항-BCMA CAR을 발현하는 CD3+ T 세포이고, 적어도 또는 약 40%는 항-BCMA CAR을 발현하는 CD4+ T 세포이고, 그리고 적어도 또는 약 20%는 항-BCMA CAR을 발현하는 CD8+ T 세포이다.

[0697] 임의의 선행 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 용기 예컨대 바이알에 약 또는 적어도 약 10×10^6 , 약 또는 적어도 약 20×10^6 , 약 또는 적어도 약 25×10^6 , 약 또는 적어도 약 50×10^6 , 약 또는 적어도 약 100×10^6 , 약 또는 적어도 약 200×10^6 , 약 또는 적어도 약 400×10^6 , 약 또는 적어도 약 600×10^6 , 약 또는 적어도 약 800×10^6 , 약 또는 적어도 약 1000×10^6 , 약 또는 적어도 약 1200×10^6 , 약 또는 적어도 약 1400×10^6 , 약 또는 적어도 약 1600×10^6 , 약 또는 적어도 약 1800×10^6 , 약 또는 적어도 약 2000×10^6 , 약 또는 적어도 약 2500×10^6 , 약 또는 적어도 약 3000×10^6 , 또는 약 또는 적어도 약 4000×10^6 개의 총 세포(예를 들어, 총 생존 세포)를 포함할 수 있다. 임의의 선행 구현예에서, 조성물의 부피는 1.0mL 내지 10mL(수치 포함), 선택적으로 (약) 2mL, 3mL, 4mL, 5mL, 6mL, 7mL, 8mL, 9mL, 또는 10mL, 또는 전술한 임의의 수치 사이의 임의의 값일 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물은 복수의 용기에, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 바이알에 담긴다. 임의의 선행 구현예에서, 조성물은 단위 용기 당 예컨대 바이알 당 약 또는 적어도 약 5×10^6 , 약 또는 적어도 약 10×10^6 , 약 또는 적어도 약 20×10^6 , 약 또는 적어도 약 25×10^6 , 약 또는 적어도 약 50×10^6 , 약 또는 적어도 약 100×10^6 , 약 또는 적어도 약 150×10^6 , 약 또는 적어도 약 200×10^6 , 약 또는 적어도 약 250×10^6 , 약 또는 적어도 약 300×10^6 , 약 또는 적어도 약 350×10^6 , 약 또는 적어도 약 400×10^6 , 약 또는 적어도 약 450×10^6 , 약 또는 적어도 약 500×10^6 , 약 또는 적어도 약 550×10^6 , 또는 약 또는 적어도 약 600×10^6 개의 총 세포(예를 들어, 총 생존 세포)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 용기 내 조성물의 세포는 용액 또는 완충액에 예를 들어 냉동 보존 용액 또는 완충액에 (약) 또는 적어도 5×10^6 개 세포/mL, 10×10^6 개 세포/mL, 20×10^6 개 세포/mL, 30×10^6 개 세포/mL, 40×10^6 개 세포/mL, 50×10^6 개 세포/mL, 60×10^6 개 세포/mL, 70×10^6 개 세포/mL, 80×10^6 개 세포/mL, 90×10^6 개 세포/mL, 100×10^6 개 세포/mL, 110×10^6 개 세포/mL, 120×10^6 개 세포/mL, 130×10^6 개 세포/mL, 140×10^6 개 세포/mL, 또는 150×10^6 개 세포/mL, 또는 전술한 임의의 수치 사이의 임의의 값의 밀도로 존재한다. 일부 구현예에서, 약 또는 최대 약 900×10^6 개 세포(예를 들어, 생존 CD4+ T 세포 및 생존 CD8+ T 세포, 또는 생존 CD3+ T 세포)가 자극을 거치고, 여기서 자극된 조성물의 약 또는 최대 약 600×10^6 개 세포(예를 들어, 생존 CD4+ T 세포 및 생존 CD8+ T 세포, 또는 생존 CD3+ T 세포)는, 예를 들어, 형질도입에 의해, 바이러스 벡터로 유전자 조작을 거치거나 비바이러스 방법의 유전자 조작을 거치고 이어서 약 72시간 또는 약 3일 동안 재조합 사이토카인 없이 무혈청 기본 배지(예를 들어, 하나 이상의 보충물이 보충됨)에서 인큐베이션을 거친다. 일부 구현예에서, 생산된 산출 조성물은 하나 이상의 용기 예컨대 바이알에 약 100×10^6 내지 약 1400×10^6 개의 총 세포(예를 들어, 총 생존 세포)를 포함한다.

[0698] 구체적인 구현예에서, 조성물의 대부분의 세포는 나이브 또는 나이브-유사 세포, 중심 기억 세포, 및/또는 효과기 기억 세포이다. 구체적인 구현예에서, 조성물의 대부분의 세포는 나이브-유사 또는 중심 기억 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 대부분의 세포는 중심 기억 세포이다. 일부 측면에서, 덜 분화된 세포, 예를 들어 중심 기억 세포는 수명이 더 길고 덜 빨리 탈진되어 지속성과 내구성이 증가한다. 일부 측면에서, 세포 요법, 예컨대 CAR-T 세포 요법에 대한 반응자는 중심 기억 유전자의 발현이 증가했다. 예를 들어, 문헌 [Fraietta 등 (2018) Nat Med. 24(5):563-571]을 참조한다.

[0699] 특정 구현예에서, 조성물의 세포는 높은 비율 및/또는 빈도의 나이브-유사 T 세포 또는 나이브-유사 T 세포 상

에서 발현되는 표지자에 표면 양성인 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들(예를 들어, 증폭 단위 조작을 포함하고/거나 세포의 증폭을 일으킬 의도의 단계들을 포함하는 공정들)로부터 생성된 조성물보다 더 큰 비율 및/또는 빈도의 나이브-유사 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 나이브-유사 T 세포는 다양한 분화 상태의 세포를 포함할 수 있고 특정 세포 표지자의 양성 또는 고 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현) 및/또는 다른 세포 표지자의 음성 또는 저 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현)을 특징으로 할 수 있다. 일부 측면에서, 나이브-유사 T 세포는 CCR7, CD45RA, CD28, 및/또는 CD27의 양성 또는 고 발현을 특징으로 한다. 일부 측면에서, 나이브-유사 T 세포는 CD25, CD45RO, CD56, CD62L, 및/또는 KLRG1의 음성 발현을 특징으로 한다. 일부 측면에서, 나이브-유사 T 세포는 CD95의 저 발현을 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 나이브-유사 T 세포 또는 나이브-유사 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7+CD45RA+이고, 여기서 상기 세포들은 CD27+ 또는 CD27-이다. 특정 구현예에서, 나이브-유사 T 세포 또는 나이브-유사 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CD27+CCR7+이고, 여기서 상기 세포들은 CD45RA+ 또는 CD45RA-이다. 특정 구현예에서, 나이브-유사 T 세포 또는 나이브-유사 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CD62L-CCR7+이다.

[0700] 구체적인 구현예에서, 조성물의 세포는 CCR7+ 세포가 농축되어 있다. CCR7은 림프절로의 T 세포 진입에 관여하는 케모카인 수용체이다. 구체적인 측면에서, CCR7은 나이브 또는 나이브-유사 T 세포(예를 들어, CCR7+CD45RA+ 또는 CCR7+CD27+) 및 중심 기억 T 세포(CCR7+CD45RA-)에 의해 발현된다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 의해 생산된 제공된 조작된 T 세포 조성물은, 집단의 T 세포의 (약) 50% 초과, (약) 55% 초과, (약) 60% 초과, (약) 65% 초과, (약) 70% 초과, (약) 75% 초과, (약) 80% 초과, (약) 85% 초과, 또는 (약) 90% 초과가 중심 기억 및 나이브-유사 T 세포인, T 세포의 집단을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 의해 생산된 제공된 조작된 T 세포 조성물은, 집단의 T 세포의 (약) 50% 초과, (약) 55% 초과, (약) 60% 초과, (약) 65% 초과, (약) 70% 초과, (약) 75% 초과, (약) 80% 초과, (약) 85% 초과, 또는 (약) 90% 초과가 CCR7+ T 세포인, T 세포의 집단을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 의해 생산된 제공된 조작된 T 세포 조성물은, 집단의 T 세포의 (약) 50% 초과, (약) 55% 초과, (약) 60% 초과, (약) 65% 초과, (약) 70% 초과, (약) 75% 초과, (약) 80% 초과, (약) 85% 초과, 또는 (약) 90% 초과가 CCR7+CD27+인, T 세포의 집단을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 의해 생산된 제공된 조작된 T 세포 조성물은, 집단의 T 세포의 (약) 50% 초과, (약) 55% 초과, (약) 60% 초과, (약) 65% 초과, (약) 70% 초과, (약) 75% 초과, (약) 80% 초과, (약) 85% 초과, 또는 (약) 90% 초과가 CCR7+CD45RA-인, T 세포의 집단을 포함한다.

[0701] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 높은 비율 및/또는 빈도의 중심 기억 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들(예를 들어, 증폭 단위 조작을 포함하고/거나 세포의 증폭을 일으킬 의도의 단계들을 포함하는 공정들)로부터 생성된 산출 조성물보다 더 큰 비율 및/또는 빈도의 중심 기억 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 중심 기억 T 세포는 다양한 분화 상태의 세포를 포함할 수 있고 특정 세포 표지자의 양성 또는 고 발현(예를 들어, 표면 발현) 및/또는 다른 세포 표지자의 음성 또는 저 발현(예를 들어, 표면 발현)을 특징으로 할 수 있다. 일부 측면에서, 중심 기억 T 세포는 CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3, 및/또는 CD127의 양성 또는 고 발현을 특징으로 한다. 일부 측면에서, 중심 기억 T 세포는 CD45RA 및/또는 그랜자임 B의 음성 또는 저 발현을 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 중심 기억 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7+CD45RA-이다.

[0702] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들(예를 들어, 증폭 단위 조작을 포함하고/거나 세포의 증폭을 일으킬 의도의 단계들을 포함하는 공정들)로부터 생성된 산출 조성물보다 더 큰 비율 및/또는 빈도의 나이브-유사 세포 및 중심 기억 세포를 갖는다.

[0703] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 낮은 비율 및/또는 빈도의 효과기 기억 및/또는 효과기 기억 RA T 세포 또는 효과기 기억 및/또는 효과기 기억 RA T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들(예를 들어, 증폭 단위 조작을 포함하고/거나 세포의 증폭을 일으킬 의도의 단계들을 포함하는 공정들)로부터 생성된 산출 조성물보다 더 낮은 비율 및/또는 빈도의 효과기 기억 및/또는 효과기 기억 RA T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 효과기 기억 및/또는 효과기 기억 RA T 세포는 다양한 분화 상태의 세포를 포함할 수 있고 특정 세포 표지자의 양성 또는 고 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현) 및/또는 다른 세포 표지자의 음성 또는 저 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현)을 특징으로 할 수 있다. 특정 구현예에서, 효과기 기억 T 세포 또는 효과기 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7-CD45RA-이다. 특정 구현예에서, 효과기

기억 RA T 세포 또는 효과기 기억 RA T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7-CD45RA+이다.

[0704] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들(예를 들어, 증폭 단위 조작을 포함하고/거나 세포의 증폭을 일으킬 의도의 단계들을 포함하는 공정들)로부터 생성된 산출 조성물보다 더 낮은 비율 및/또는 빈도의 효과기 기억 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들(예를 들어, 증폭 단위 조작을 포함하고/거나 세포의 증폭을 일으킬 의도의 단계들을 포함하는 공정들)로부터 생성된 산출 조성물보다 더 낮은 비율 및/또는 빈도의 효과기 기억 RA T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들(예를 들어, 증폭 단위 조작을 포함하고/거나 세포의 증폭을 일으킬 의도의 단계들을 포함하는 공정들)로부터 생성된 산출 조성물보다 더 큰 비율 및/또는 빈도의 나이브-유사 세포 및 중심 기억 세포 및 더 낮은 비율 및/또는 빈도의 효과기 기억 및 효과기 기억 RA T 세포를 갖는다.

[0705] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 나이브-유사 및/또는 중심 기억 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 중심 기억 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 기억 표현형, 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형, 또는 나이브-유사 또는 중심 기억 T 세포, 또는 중심 기억 T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 T 세포, 또는 중심 기억 T 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 나이브-유사 또는 중심 기억 CD4+ T 세포, 또는 중심 기억 CD4+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 CD4+ T 세포, 또는 중심 기억 CD4+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포의 (약) 40% 내지 (약) 65%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 CD4+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 나이브-유사 또는 중심 기억 CD4+CAR+ T 세포, 또는 중심 기억 CD4+CAR+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 CD4+CAR+ T 세포, 또는 중심 기억 CD4+CAR+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+CAR+ T 세포의 (약) 40% 내지 (약) 65%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 CD4+CAR+ T 세포, 또는 중심 기억 CD4+CAR+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 나이브-유사 또는 중심 기억 CD8+ T 세포, 또는 중심 기억 CD8+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 CD8+ T 세포, 또는 중심 기억 CD8+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+ T 세포의 (약) 40% 내지 (약) 65%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 CD8+ T 세포, 또는 중심 기억 CD8+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 나이브-유사 또는 중심 기억 CD8+CAR+ T 세포, 또는 중심 기억 CD8+CAR+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 CD8+CAR+ T 세포, 또는 중심 기억 CD8+CAR+ T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+CAR+ T 세포의 (약) 40% 내지 (약) 65%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 나이브-유사 또는 중심 기억 CD8+CAR+ T 세포, 또는 중심 기억 CD8+CAR+ T 세포이다.

(약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 나이트-유사 또는 중심 기억 CD8+CAR+ T 세포, 또는 중심 기억 CD8+CAR+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CAR+ T 세포(예를 들어, CD4+CAR+ T 세포 및 CD8+CAR+ T 세포)의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 나이트-유사 또는 중심 기억 T 세포, 또는 중심 기억 T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CAR+ T 세포(예를 들어, CD4+CAR+ T 세포 및 CD8+CAR+ T 세포)의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 나이트-유사 또는 중심 기억 T 세포, 또는 중심 기억 T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 CD27+, CD28+, CCR7+, CD45RA-, CD45RO+, CD62L+, CD3+, CD95+, 그랜자임 B-, 및/또는 CD127+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 CD27+, CD28+, CCR7+, CD45RA-, CD45RO+, CD62L+, CD3+, CD95+, 그랜자임 B-, 및/또는 CD127+이다.

[0706] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 적어도 또는 (약) 85%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형, 또는 나이트-유사 또는 중심 기억 T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 15% 또는 그 미만은 효과기 또는 효과기 RA 표현형이거나, 또는 효과기 또는 효과기 RA T 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 탈진된 및/또는 노화된 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 탈진된 및/또는 노화된 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 40% 미만, (약) 35% 미만, (약) 30% 미만, (약) 25% 미만, (약) 20% 미만, (약) 15% 미만, (약) 10% 미만, (약) 5% 미만, 또는 (약) 1% 미만은 탈진 및/또는 노화된다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 25% 미만은 탈진 및/또는 노화된다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 10% 미만은 탈진 및/또는 노화된다.

[0707] 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 CD27 및 CD28 발현, 예를 들어, 표면 발현에 대해 음성인 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 CD27-CD28- 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 40% 미만, (약) 35% 미만, (약) 30% 미만, (약) 25% 미만, (약) 20% 미만, (약) 15% 미만, (약) 10% 미만, (약) 5% 미만, 또는 (약) 1% 미만은 CD27-CD28- 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 25% 미만은 CD27-CD28- 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 10% 미만은 CD27-CD28- 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 5% 미만은 CD27-CD28- 세포이다.

[0708] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 CD27 및 CD28 발현, 예를 들어, 표면 발현에 대해 양성인 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 CD27+ CD28+ 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 적어도 (약) 50%, 적어도 (약) 60%, 적어도 (약) 70%, 적어도 (약) 75%, 적어도 (약) 80%, 적어도 (약) 85%, 적어도 (약) 90%, 적어도 (약) 95%, 또는 (약) 95% 이상은 CD27+CD28+ 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 25% 미만은 CD27-CD28- 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 적어도 (약) 50%는 CD27+CD28+ 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 적어도 (약) 75%는 CD27+CD28+ 세포이다.

[0709] 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 T_{EMRA} 세포인 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 T_{EMRA} 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 40% 미만, (약) 35% 미만, (약) 30% 미만, (약) 25% 미만, (약) 20% 미만, (약) 15% 미만, (약) 10% 미만, (약) 5% 미만, 또는 (약) 1% 미만은 T_{EMRA} 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 25% 미만은 T_{EMRA} 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 10% 미만은 T_{EMRA} 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 5% 미만은 T_{EMRA} 세포이다.

[0710] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 CCR7에 대해 음성 및 CD45RA 발현, 예를 들어, 표면 발현에 대해 양성인 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 CCR7-CD45RA+ 세포를 낮은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 40% 미만, (약) 35% 미만, (약) 30% 미만, (약) 25% 미만, (약) 20% 미만, (약) 15% 미만, (약) 10% 미만, (약) 5% 미만, 또는 (약) 1%

미만은 CCR7-CD45RA+ 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 25% 미만은 CCR7-CD45RA+ 세포이다. 구체적인 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 10% 미만은 CCR7-CD45RA+ 세포이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 5% 미만은 CCR7-CD45RA+ 세포이다.

[0711] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 높은 비율 및/또는 빈도의 초기 분화 단계의 T 세포 또는 초기 분화 단계의 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들(예를 들어, 증폭 단위 조작을 포함하고/거나 세포의 증폭을 일으킬 의도의 단계들을 포함하는 공정들)로부터 생성된 산출 조성물보다 더 큰 비율 및/또는 빈도의 초기 분화 단계의 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 초기 분화 단계의 T 세포는 특정 세포 표지자의 양성 또는 고 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현) 및/또는 다른 세포 표지자의 음성 또는 저 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현)을 특징으로 할 수 있다. 일부 측면에서, 초기 분화 단계의 T 세포는 CCR7 및/또는 CD27의 양성 또는 고 발현을 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 초기 분화 단계의 T 세포 또는 초기 분화 단계의 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7+CD27+이다.

[0712] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 낮은 비율 및/또는 빈도의 중간 분화 단계의 T 세포 또는 중간 분화 단계의 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들로부터 생성된 산출 조성물보다 더 낮은 비율 및/또는 빈도의 중간 분화 단계의 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 중간 분화 단계의 T 세포는 특정 세포 표지자의 양성 또는 고 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현) 및/또는 다른 세포 표지자의 음성 또는 저 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현)을 특징으로 할 수 있다. 특정 구현예에서, 중간 분화 단계의 T 세포 또는 중간 분화 단계의 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7+CD27-이다. 특정 구현예에서, 중간 분화 단계의 T 세포 또는 중간 분화 단계의 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7-CD27+이다. 특정 구현예에서, 중간 분화 단계의 T 세포 또는 중간 분화 단계의 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7+CD27-인 세포 및 CCR7-CD27+인 세포를 포함한다.

[0713] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 낮은 비율 및/또는 빈도의 고도로 분화된 T 세포 또는 고도로 분화된 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들로부터 생성된 산출 조성물보다 더 낮은 비율 및/또는 빈도의 고도로 분화된 T 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 고도로 분화된 T 세포는 특정 세포 표지자의 양성 또는 고 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현) 및/또는 다른 세포 표지자의 음성 또는 저 발현(예를 들어, 표면 발현 또는 세포내 발현)을 특징으로 할 수 있다. 일부 측면에서, 고도로 분화된 T 세포는 CCR7 및/또는 CD27의 음성 또는 저 발현을 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 고도로 분화된 T 세포 또는 고도로 분화된 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 T 세포는 CCR7-CD27-이다.

[0714] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들로부터 생성된 산출 조성물보다 더 큰 비율 및/또는 빈도의 초기 분화 단계의 T 세포(예를 들어, CCR7+CD27+인 세포), 더 낮은 비율 및/또는 빈도의 중간 분화 단계의 T 세포(예를 들어, CCR7+CD27-인 세포 및/또는 CCR7-CD27+인 세포), 및 더 낮은 비율 및/또는 빈도의 고도로 분화된 T 세포(예를 들어, CCR7-CD27-인 세포)를 갖는다.

[0715] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 대체 공정들, 예컨대 증폭을 수반하는 공정들로부터 생성된 산출 조성물보다 더 큰 비율 및/또는 빈도의 나이브-유사 세포 및 중심 기억 세포를 갖는다. 특정 구현예에서, 나이브-유사 세포 및 중심 기억 세포는 초기 분화 단계의 T 세포(예를 들어, CCR7+CD27+인 세포)를 포함하여 다양한 분화 단계의 세포를 포함한다.

[0716] 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 CCR7 및 CD27 발현, 예를 들어, 표면 발현에 대해 양성인 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포는 CCR7+ CD27+ 세포를 높은 비율 및/또는 빈도로 갖는다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 (약) 5% 미만, (약) 10% 미만, (약) 15% 미만, (약) 20% 미만, (약) 25% 미만, 또는 (약) 30% 미만은 CCR7- 또는 CD27- 세포이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 적어도 또는 (약) 98%, 또는 98% 이상은 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약)

75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+ T 세포의 (약) 40% 내지 (약) 65%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD4+CAR+ T 세포의 (약) 40% 내지 (약) 65%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+ T 세포의 (약) 40% 내지 (약) 65%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CD8+CAR+ T 세포의 (약) 40% 내지 (약) 65%, (약) 40% 내지 (약) 45%, (약) 45% 내지 (약) 50%, (약) 50% 내지 (약) 55%, (약) 55% 내지 (약) 60%, 또는 (약) 60% 내지 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 일부 구현예에서, 산출 조성물의 CAR+ T 세포(예를 들어, CD4+CAR+ T 세포 및 CD8+CAR+ T 세포)의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 CCR7+CD27+이다. 특정 구현예에서, 산출 조성물의 CAR+ T 세포(예를 들어, CD4+CAR+ T 세포 및 CD8+CAR+ T 세포)의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 CCR7+CD27+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 30%, 적어도 또는 (약) 40%, 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 60%, 적어도 또는 (약) 70%, 적어도 또는 (약) 75%, 적어도 또는 (약) 80%, 적어도 또는 (약) 85%, 적어도 또는 (약) 90%, 적어도 또는 (약) 95%, 또는 95% 이상은 CD27+, CD28+, CCR7+, CD45RA-, CD45RO+, CD62L+, CD3+, CD95+, 그랜자임 B-, 및/또는 CD127+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 CAR+ T 세포의 적어도 또는 (약) 50%, 적어도 또는 (약) 55%, 적어도 또는 (약) 60%, 또는 적어도 또는 (약) 65%는 CD27+, CD28+, CCR7+, CD45RA-, CD45RO+, CD62L+, CD3+, CD95+, 그랜자임 B-, 및/또는 CD127+이다.

[0717]

일부 구현예에서, 재조합 수용체를 발현하는 CD3+ T 세포를 포함하고/거나 CD3+ T 세포가 농축된 치료용 T 세포 조성물이 본원에 제공되며, 여기서 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%, 적어도 또는 적어도 약 85%, 적어도 또는 적어도 약 90%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 적어도 또는 적어도 약 96%, 적어도 또는 적어도 약 97%, 적어도 또는 적어도 약 98%, 적어도 또는 적어도 약 99%, 약 100%, 또는 100%는 CD3+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 95%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 98%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%는 CD27+CCR7+이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 50%는 CD27+CCR7+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 90%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총

수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이다.

[0718] 일부 구현예에서, 제조할 수용체를 발현하는 CD3+ T 세포를 포함하고/거나 CD3+ T 세포가 농축된 치료용 T 세포 조성물이 본원에 제공되며, 여기서 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%, 적어도 또는 적어도 약 85%, 적어도 또는 적어도 약 90%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 적어도 또는 적어도 약 96%, 적어도 또는 적어도 약 97%, 적어도 또는 적어도 약 98%, 적어도 또는 적어도 약 99%, 약 100%, 또는 100%는 CD3+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 95%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 98%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 50%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 90%는 CD3+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다.

[0719] 일부 구현예에서, 재조합 수용체를 발현하는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포를 포함하고/거나 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포가 농축된 치료용 T 세포 조성물이 본원에 제공되며, 여기서 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 및 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%, 적어도 또는 적어도 약 85%, 적어도 또는 적어도 약 90%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 적어도 또는 적어도 약 96%, 적어도 또는 적어도 약 97%, 적어도 또는 적어도 약 98%, 적어도 또는 적어도 약 99%, 약 100%, 또는 100%는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포이다.

[0720] 일부 구현예에서, 제조할 수용체를 발현하는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포를 포함하고/거나 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포가 농축된 치료용 T 세포 조성물이 본원에 제공되며, 여기서 조성물 중 총 수용체+/CD4+ 및 총 수용체+/CD8+ T 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%, 적어도 또는 적어도 약 85%, 적어도 또는 적어도 약 90%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 적어도 또는 적어도 약 96%, 적어도 또는 적어도 약 97%, 적어도 또는 적어도 약 98%, 적어도 또는 적어도 약 99%, 약 100%, 또는 100%는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체+/CD4+ 및 수용체+/CD8+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 95%는 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체+/CD4+ 및 수용체+/CD8+ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적

어도 약 98%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 및 수용체⁺/CD8⁺ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 50%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 적어도 90%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포이거나 또는 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다.

[0721]

특정 구현예에서, 재조합 수용체를 발현하는 CD4⁺ T 세포 및 재조합 수용체를 발현하는 CD8⁺ T 세포를 포함하는 치료용 T 세포 조성물이 본원에 개시되며, 여기서 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이고 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이고, 여기서 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%, 적어도 또는 적어도 약 85%, 적어도 또는 적어도 약 90%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 적어도 또는 적어도 약 96%, 적어도 또는 적어도 약 97%, 적어도 또는 적어도 약 98%, 적어도 또는 적어도 약 99%, 약 100%, 또는 100%는 CD3⁺ T 세포이다. 특정 구현예에서, 재조합 수용체를 발현하는 CD4⁺ T 세포 및 재조합 수용체를 발현하는 CD8⁺ T 세포를 포함하는 치료용 T 세포 조성물이 본원에 개시되며, 여기서 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이고 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 CD27+CCR7+이고, 여기서 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%, 적어도 또는 적어도 약 85%, 적어도 또는 적어도 약 90%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 적어도 또는 적어도 약 96%, 적어도 또는 적어도 약 97%, 적어도 또는 적어도 약 98%, 적어도 또는 적어도 약 99%, 약 100%, 또는 100%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 CD27+CCR7+이며, 치료용 T 세포 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 40%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 95%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 65%는 CD27+CCR7+이며, 치료용 T 세포 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 45%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 98%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%, 적어도 또는 적어도 약 75%, 적어도 또는 적어도 약 80%, 또는 적어도 또는 적어도 약 85%는 CD27+CCR7+이며, 치료용 T 세포 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%, 적어도 또는 적어도 약 55%, 적어도 또는 적어도 약 60%, 또는 적어도 또는 적어도 약 65%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 98%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 75%는 CD27+CCR7+이며, 치료용 T 세포 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 55%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 98%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는 CD27+CCR7+이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 65%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 98%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%

는 CD27+CCR7+이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 90%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 60%는 CD27+CCR7+이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 40%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 90%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 70%는 CD27+CCR7+이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 50%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 90%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 70%는 CD27+CCR7+이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 60%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 95%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 70%는 CD27+CCR7+이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 70%는 CD27+CCR7+이다. 일부 측면에서, 조성물 중 세포의 적어도 95%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이고, 조성물 중 총 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 80%는 CD27+CCR7+이며, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 세포의 적어도 80%는 CD27+CCR7+이다.

[0722] 임의의 선행 구현예에서, 세포 집단 또는 조성물 내에서 하나 이상의 표지자(예를 들어, CD3, CD4, CD8, CD27, CD28, CCR7, 또는 CD45RA 등)에 대해 양성/음성인 세포의 백분율은 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 복수의 산출 조성물의 평균 또는 중간 백분율일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 집단 또는 조성물 내에서 표지자에 대해 양성인 세포의 백분율은 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 복수의 산출 조성물의 상기 백분율들의 평균이다. 일부 구현예에서, 복수의 산출 조성물은, 동일한 생물학적 샘플 또는 상이한 생물학적 샘플들(예를 들어, PBMC 또는 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플), 예를 들어, 동일한 공여체 또는 상이한 공여체들로부터 기원할 수 있는, 복수의 투입 조성물로부터 본원에 개시된 방법에 의해 생산된다. 일부 측면에서, 평균은 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 복수의 약 또는 적어도 약 5, 약 또는 적어도 약 10, 약 또는 적어도 약 15, 약 또는 적어도 약 20, 약 또는 적어도 약 25, 약 또는 적어도 약 30, 약 또는 적어도 약 35, 약 또는 적어도 약 40, 약 또는 적어도 약 45, 약 또는 적어도 약 50, 약 또는 적어도 약 55, 약 또는 적어도 약 60, 약 또는 적어도 약 100개, 또는 약 100개 이상의 산출 조성물에 기초한다.

[0723] 일부 구현예에서, 평균적으로 본 방법에 의해 생산된 복수의(예를 들어, 약 또는 적어도 약 5개) 산출 조성물에서, 조성물 중 T 세포의 총 수 또는 조성물 중 재조합 단백질을 발현하는 T 세포의 총 수의 적어도 (약), 또는 (약) 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%는 CD4⁺ T 세포 및 CD8⁺ T 세포이다. 일부 구현예에서, 평균적으로 본 방법에 의해 생산된 복수의(예를 들어, 약 또는 적어도 약 5개) 산출 조성물에서, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 및 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%는 나이브-유사 T 세포이거나 나이브-유사 T 세포(예를 들어, CD27+CCR7+ 세포) 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 복수의(예를 들어, 약 또는 적어도 약 5개) 산출 조성물은, 평균적으로, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 및 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포를 포함하거나, 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 복수의(예를 들어, 약 또는 적어도 약 5개) 산출 조성물은, 평균적으로, 조성물 중 총 수용체⁺/CD4⁺ 및 수용체⁺/CD8⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 나이브-유사 T 세포를 포함하거나, 나이브-유사 T 세포(예를 들어, CD27+CCR7+ 세포) 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 복수의(예를 들어, 약 또는 적어도 약 5개) 산출 조성물은, 평균적으로, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 나이브-유사 T 세포를 포함하거나, 나이브-유사 T 세포(예를 들어, CD27+CCR7+ 세포) 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 복수의(예를 들어, 약 또는 적어도 약 5개) 산출 조성물은, 평균적으로, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포를 포함하거나, 나이브-유사 T 세포 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성이다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 복수의(예를 들어, 약 또는 적어도 약 5개) 산출 조성물은, 평균적으로, 조성물 중 총 수용체⁺/CD3⁺ 세포의 적어도 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% CD27+CCR7+ 세포를 포함한다.

- [0724] 일부 구현예에서, 조성물은 T 세포 계능 내로 통합된 항-BCMA CAR을 암호화하는 이중 또는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 갖는 T 세포를 포함한다. 구체적인 구현예에서, 조성물 중 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는, 평균적으로, 2배체 계능 당 약 또는 적어도 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5개 또는 5개 이상이다. 구체적인 구현예에서, 조성물 중 CAR+ 세포의 iVCN은 평균적으로 2배체 계능 당 (약) 0.4개 카피 내지 2배체 계능 당 3.0개 카피(수치 포함)이다. 구체적인 구현예에서, 조성물 중 CAR+ 세포의 iVCN은 평균적으로 2배체 계능 당 약 0.4, 약 0.5, 약 0.6, 약 0.7, 약 0.8, 약 0.9, 약 1.0, 약 1.1, 약 1.2, 약 1.3, 약 1.4, 약 1.5, 약 1.6, 약 1.7, 약 1.8, 약 1.9, 약 2.0, 약 2.1, 약 2.2, 약 2.3, 약 2.4, 약 2.5, 약 2.6, 약 2.7, 약 2.8, 약 2.9, 또는 약 3.0개 카피이다.
- [0725] 특정 구현예에서, 형질전환된 세포의 집단의 2배체 계능 중 총 벡터 카피수(VCN)에 대한 iVCN의 분율은 평균적으로 (약) 0.9 미만이고, 예를 들어, 적어도 또는 약 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9이거나, 이의 허용 오차, 예를 들어, $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, 또는 $\pm 1\%$ 이내이다. 특정 구현예에서, 형질전환된 세포의 집단의 2배체 계능 중 총 벡터 카피수(VCN)에 대한 iVCN의 분율은 평균적으로 (약) 0.8이거나, 이의 허용 오차 이내이다.
- [0726] 일부 구현예에서, 조성물 중 세포의 총 벡터 카피수(VCN)는 평균적으로 (약) 20, 18, 16, 14, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 카피(수치 포함) 미만이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 CD3+ 세포의 총 벡터 카피수(VCN)는 평균적으로 (약) 20, 18, 16, 14, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 카피(수치 포함) 미만이다. 일부 구현예에서, 조성물 중 CD3+CAR+ 세포의 총 벡터 카피수(VCN)는 평균적으로 (약) 20, 18, 16, 14, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 카피(수치 포함) 미만이다.
- [0727] 일부 구현예에서, 조성물은 잔류 자극 시약, 예를 들어, 섹션 II-C-6에 기술된 임의의 방법에 따라 제거되지 않은 자극 시약을 포함한다. 일부 구현예에서, 잔류 자극 시약은 섹션 II-C-2에 기술된 올리고머성 자극 시약 중 임의의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 잔류 자극 시약은 섹션 II-C-2에 기술된 올리고머성 스트렙타비딘 뮤테인 시약 중 임의의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 (약) 50 내지 2000ng/mL, 예컨대 (약) 50 내지 1900ng/mL, 50 내지 1800ng/mL, 50 내지 1700ng/mL, 50 내지 1600ng/mL, 50 내지 1500ng/mL, 50 내지 1400ng/mL, 50 내지 1300ng/mL, 50 내지 1200ng/mL, 50 내지 1100ng/mL, 50 내지 1000ng/mL, 50 내지 900ng/mL, 50 내지 800ng/mL, 50 내지 700ng/mL, 50 내지 600ng/mL, 50 내지 500ng/mL, 50 내지 400ng/mL, 50 내지 300ng/mL, 50 내지 200ng/mL, 50 내지 100ng/mL, 100 내지 2000ng/mL, 100 내지 1900ng/mL, 100 내지 1800ng/mL, 100 내지 1700ng/mL, 100 내지 1600ng/mL, 100 내지 1500ng/mL, 100 내지 1400ng/mL, 100 내지 1300ng/mL, 100 내지 1200ng/mL, 100 내지 1100ng/mL, 100 내지 1000ng/mL, 100 내지 900ng/mL, 100 내지 800ng/mL, 100 내지 700ng/mL, 100 내지 600ng/mL, 100 내지 500ng/mL, 100 내지 400ng/mL, 100 내지 300ng/mL, 100 내지 200ng/mL, 200 내지 2000ng/mL, 200 내지 1900ng/mL, 200 내지 1800ng/mL, 200 내지 1700ng/mL, 200 내지 1600ng/mL, 200 내지 1500ng/mL, 200 내지 1400ng/mL, 200 내지 1300ng/mL, 200 내지 1200ng/mL, 200 내지 1100ng/mL, 200 내지 1000ng/mL, 200 내지 900ng/mL, 200 내지 800ng/mL, 200 내지 700ng/mL, 200 내지 600ng/mL, 200 내지 500ng/mL, 200 내지 400ng/mL, 200 내지 300ng/mL, 300 내지 2000ng/mL, 300 내지 1900ng/mL, 300 내지 1800ng/mL, 300 내지 1700ng/mL, 300 내지 1600ng/mL, 300 내지 1500ng/mL, 300 내지 1400ng/mL, 300 내지 1300ng/mL, 300 내지 1200ng/mL, 300 내지 1100ng/mL, 300 내지 1000ng/mL, 300 내지 900ng/mL, 300 내지 800ng/mL, 300 내지 700ng/mL, 300 내지 600ng/mL, 300 내지 500ng/mL, 300 내지 400ng/mL, 400 내지 2000ng/mL, 400 내지 1900ng/mL, 400 내지 1800ng/mL, 400 내지 1700ng/mL, 400 내지 1600ng/mL, 400 내지 1500ng/mL, 400 내지 1400ng/mL, 400 내지 1300ng/mL, 400 내지 1200ng/mL, 400 내지 1100ng/mL, 400 내지 1000ng/mL, 400 내지 900ng/mL, 400 내지 800ng/mL, 400 내지 700ng/mL, 400 내지 600ng/mL, 400 내지 500ng/mL, 500 내지 2000ng/mL, 500 내지 1900ng/mL, 500 내지 1800ng/mL, 500 내지 1700ng/mL, 500 내지 1600ng/mL, 500 내지 1500ng/mL, 500 내지 1400ng/mL, 500 내지 1300ng/mL, 500 내지 1200ng/mL, 500 내지 1100ng/mL, 500 내지 1000ng/mL, 500 내지 900ng/mL, 500 내지 800ng/mL, 500 내지 700ng/mL, 500 내지 600ng/mL, 600 내지 2000ng/mL, 600 내지 1900ng/mL, 600 내지 1800ng/mL, 600 내지 1700ng/mL, 600 내지 1600ng/mL, 600 내지 1500ng/mL, 600 내지 1400ng/mL, 600 내지 1300ng/mL, 600 내지 1200ng/mL, 600 내지 1100ng/mL, 600 내지 1000ng/mL, 600 내지 900ng/mL, 600 내지 800ng/mL, 600 내지 700ng/mL, 700 내지 2000ng/mL, 700 내지 1900ng/mL, 700 내지 1800ng/mL, 700 내지 1700ng/mL, 700 내지 1600ng/mL, 700 내지 1500ng/mL, 700 내지 1400ng/mL, 700 내지 1300ng/mL, 700 내지 1200ng/mL, 700 내지 1100ng/mL, 700 내지 1000ng/mL, 700 내지 900ng/mL, 700 내지 800ng/mL, 800 내지 2000ng/mL, 800 내지 1900ng/mL, 800 내지 1800ng/mL, 800 내지 1700ng/mL, 800 내지 1600ng/mL, 800 내지

1500ng/mL, 800 내지 1400ng/mL, 800 내지 1300ng/mL, 800 내지 1200ng/mL, 800 내지 1100ng/mL, 800 내지 1000ng/mL, 800 내지 900ng/mL, 900 내지 2000ng/mL, 900 내지 1900ng/mL, 900 내지 1800ng/mL, 900 내지 1700ng/mL, 900 내지 1600ng/mL, 900 내지 1500ng/mL, 900 내지 1400ng/mL, 900 내지 1300ng/mL, 900 내지 1200ng/mL, 900 내지 1100ng/mL, 900 내지 1000ng/mL, 1000 내지 2000ng/mL, 1000 내지 1900ng/mL, 1000 내지 1800ng/mL, 1000 내지 1700ng/mL, 1000 내지 1600ng/mL, 1000 내지 1500ng/mL, 1000 내지 1400ng/mL, 1000 내지 1300ng/mL, 1000 내지 1200ng/mL, 1000 내지 1100ng/mL, 1100 내지 2000ng/mL, 1100 내지 1900ng/mL, 1100 내지 1800ng/mL, 1100 내지 1700ng/mL, 1100 내지 1600ng/mL, 1100 내지 1500ng/mL, 1100 내지 1400ng/mL, 1100 내지 1300ng/mL, 1100 내지 1200ng/mL, 1200 내지 2000ng/mL, 1200 내지 1900ng/mL, 1200 내지 1800ng/mL, 1200 내지 1700ng/mL, 1200 내지 1600ng/mL, 1200 내지 1500ng/mL, 1200 내지 1400ng/mL, 1200 내지 1300ng/mL, 1300 내지 2000ng/mL, 1300 내지 1900ng/mL, 1300 내지 1800ng/mL, 1300 내지 1700ng/mL, 1300 내지 1600ng/mL, 1300 내지 1500ng/mL, 1300 내지 1400ng/mL, 1400 내지 2000ng/mL, 1400 내지 1900ng/mL, 1400 내지 1800ng/mL, 1400 내지 1700ng/mL, 1400 내지 1600ng/mL, 1400 내지 1500ng/mL, 1500 내지 2000ng/mL, 1500 내지 1900ng/mL, 1500 내지 1800ng/mL, 1500 내지 1700ng/mL, 1500 내지 1600ng/mL, 1600 내지 2000ng/mL, 1600 내지 1900ng/mL, 1600 내지 1800ng/mL, 1600 내지 1700ng/mL, 1700 내지 2000ng/mL, 1700 내지 1900ng/mL, 1700 내지 1800ng/mL, 1800 내지 2000ng/mL, 1800 내지 1900ng/mL, 또는 1900 내지 2000ng/mL(각 수치 포함)의 잔류 자극 시약을 함유한다.

[0728] 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법이 본원에 또한 개시되고, 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 BCMA를 표적화하는 CAR을 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 투여되는 조성물은 미리 정해진 특징을 나타내는 산출 조성물을 생산하기 위한 제조 공정에 의해 생산되고, 여기서 상기 제조 공정의 반복은 복수의 상이한 개별 대상체에서 수행될 때, 선택적으로 인간 생물학적 샘플로부터, 복수의 산출 조성물을 생산하고, 상기 복수의 산출 조성물 중 산출 조성물의 미리 정해진 특징은 CD3+ 세포의 백분율, CD4+/CD8+ 또는 CD4CAR+/CD8+CD8+ 세포의 비, 세포자멸사 표지자를 발현하는 세포의 백분율, 덜 분화된 세포의 백분율, 및 iVCN 및 iVCN/VCN 값들을 포함하여 섹션 III에 개시된 조성물들의 특징들로부터 임의의 조합으로 선택된다.

[0729] IV. 정의

[0730] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어, 표기법 및 다른 기술 및 과학 용어 또는 전문 용어는 청구된 주제가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 일부 경우에, 일반적으로 이해되는 의미를 갖는 용어는 명확성 및/또는 용이한 참조를 위해 본원에서 정의되며, 본원에 상기 정의를 포함하는 것이 본 기술 분야에서 일반적으로 이해되는 것과 실질적인 차이를 나타내는 것으로 반드시 해석되는 것은 아니다.

[0731] 용어 “폴리펩타이드(polypeptide)” 및 “단백질(protein)”은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 상호 교환적으로 사용되며, 최소 길이로 제한되지 않는다. 제공된 수용체 및 다른 폴리펩타이드(예를 들어, 링커 또는 펩타이드)를 포함하는 폴리펩타이드는 천연 및/또는 비천연 아미노산 잔기를 포함하는 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 상기 용어들은 또한 폴리펩타이드의 발현 후 변형, 예를 들어 글리코실화, 시알릴화, 아세틸화, 및 인산화 포함한다. 일부 측면에서, 폴리펩타이드는 단백질이 원하는 활성을 유지하는 한, 천연 또는 자연 서열에 대한 변형을 함유할 수 있다. 상기 변형은 부위-지정 돌연변이 유발을 통한 것과 같이 의도적일 수 있거나, 단백질을 생성하는 숙주의 돌연변이 또는 PCR 증폭으로 인한 오류를 통한 것과 같이 우발적일 수 있다.

[0732] 본원에서 사용될 때, “대상체(subject)”는 인간 또는 다른 동물과 같은 포유동물이며, 통상적으로 인간이다. 일부 구현예에서, 제제 또는 제제들, 세포, 세포 집단, 또는 조성물이 투여되는 대상체(예를 들어, 환자)는 포유동물이며, 통상적으로 인간 등의 영장류이다. 일부 구현예에서, 영장류는 원숭이 또는 유인원이다. 대상체는 남성(수컷) 또는 여성(암컷)일 수 있으며, 유아, 소아, 청소년, 성인 및 노인 대상체를 포함한 임의의 적합한 연령일 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 설치류와 같은 비영장류 포유동물이다.

[0733] 본원에서 사용될 때, “치료(treatment)(treat, treating 등 문법적 변형 포함)”는 질병 또는 병태 또는 장애 또는 이와 관련된 증상, 역효과 또는 결과 또는 표현형의 완전한 또는 부분적인 개선 또는 감소를 지칭한다. 치료의 바람직한 효과는 질병의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질병의 직접적 또는 간접적인 병리적 결과 중 어느 하나의 감소, 전이 예방, 질병 진행의 속도 감소, 질병 상태의 개선 또는 완화 및 관해(remission) 또는 향상된 예후를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 용어들은 질병의 완전한 치료 또는 임의의 증상의 완전한 제거 또는 모든 증상 또는 결과에 대한 효과(들)를 의미하지 않는다.

- [0734] 본원에서 사용될 때, “질병의 발병 지연(delaying development of a disease)”은 질병(예컨대 암)의 발병을 미룸, 방해, 늦춤, 지연, 안정화, 억제 및/또는 연기하는 것을 의미한다. 상기 지연은 치료 중인 개체 및/또는 질병의 이력에 따라 다양한 시간의 길이일 수 있다. 일부 구현예에서, 충분하거나 유의미한 지연은 개체에 질병이 발병하지 않는다는 점에서 사실상 예방을 포함할 수 있다. 예를 들면, 전이의 발병과 같이 말기 단계 암이 지연될 수 있다.
- [0735] 본원에서 사용될 때, “예방(preventing)”은 질병에 걸릴 성향을 가질 수 있으나 아직 질병으로 진단되지 않은 대상체에서 질병의 발생 또는 재발과 관련하여 예방을 제공하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 세포 및 조성물은 질병의 발병을 지연시키거나 질병의 진행을 늦추는 데 사용된다.
- [0736] 본원에서 사용될 때, 기능 또는 활성을 “억제(suppress)”한다는 것은 다른 조건과 비교하여 또는 대안적으로 관심 조건 또는 매개변수를 제외하고 달리 동일한 조건과 비교할 때 기능 또는 활성을 감소시키는 것이다. 예를 들어, 종양 성장을 억제하는 세포는 그 세포의 부재 시에 종양의 성장 속도에 비해 종양의 성장 속도를 감소시킨다.
- [0737] 제제, 예를 들어 약학적 제형, 세포 또는 조성물의 “유효량(effective amount)”은 투여의 맥락에서, 치료적 또는 예방적 결과와 같은 원하는 결과를 달성하기 위해 투여량/양에서와 필요한 기간 동안의 효과적인 양을 지칭한다.
- [0738] 제제, 예를 들어 약학적 제형 또는 세포의 “치료적 유효량(therapeutically effective amount)”은 예컨대 질병, 병태 또는 장애의 치료 및/또는 치료의 약동학적 또는 약력학적 효과를 위해 원하는 치료적 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량에서와 기간 동안의 효과적인 양을 지칭한다. 치료적 유효량은 대상체의 질병 상태, 연령, 성별 및 체중 및 투여된 세포의 집단과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 세포 및/또는 조성물을 유효량, 예를 들어 치료적 유효량으로 투여하는 것을 포함한다.
- [0739] “예방적 유효량(prophylactically effective amount)”은 원하는 예방적 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량에서와 시간 동안의 효과적인 양을 지칭한다. 반드시는 아니나 통상적으로, 예방적 용량이 질병 이전 또는 초기 단계의 대상체에서 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 적을 것이다. 더 낮은 종양 부담의 맥락에서, 예방적 유효량은 일부 측면에서 치료적 유효량보다 더 많을 것이다.
- [0740] 본원에서 사용될 때, 용어 “약(about)”은 본 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 용이하게 알려진 각각의 값에 대한 일반적인 오차 범위를 지칭한다. 본원에서 “약(about)”의 값 또는 매개변수에 대한 언급은 상기 값 또는 매개변수 자체에 관한 구현예를 포함(및 기술)한다.
- [0741] 본원에서 사용될 때, 단수 형태(“a”, “an” 및 “the”)는 문맥상 명백하게 다르게 지시하지 않는 한 복수의 지시 대상을 포함한다. 예를 들어, 단수 형태(“a” 또는 “an”)는 “적어도 하나(at least one)” 또는 “하나 이상(one or more)”을 의미한다.
- [0742] 본 개시 내용 전체에서, 청구된 주제의 다양한 측면이 범위 형식으로 제시된다. 범위 형식의 기재는 단지 편의 및 간결성을 위한 것이며 청구된 주제의 범위에 대한 융통성 없는 제한으로 해석되어서는 안된다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 범위의 기재는 모든 가능한 하위 범위 및 상기 범위 내의 개별 수치들을 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 값의 범위가 제공되는 경우, 상기 범위의 상한 내지 하한 사이 각각의 사이에 오는 값과 상기 언급된 범위에서 임의의 다르게 언급되거나 사이에 오는 값은 청구된 주제 내에 포함되는 것으로 이해된다. 상기 더 작은 범위의 상한 내지 하한은 독립적으로 더 작은 범위에 포함될 수 있고, 또한 언급된 범위에서 임의의 구체적으로 배제된 한계를 조건으로, 청구된 주제 내에 포함된다. 언급된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 상기 포함된 한계 중 하나 또는 둘 모두를 제외한 범위도 청구된 주제에 포함된다. 이는 범위의 폭에 관계없이 적용된다.
- [0743] 본원에서 사용될 때, 조성물(composition)은 세포를 포함하여 둘 이상의 생성물, 물질 또는 화합물의 임의의 혼합물을 지칭한다. 이는 용액, 현탁액, 액체, 분말, 페이스트, 수성, 비수성 또는 이들의 임의의 조합물일 수 있다.
- [0744] 본원에서 사용될 때, 하나 이상의 특정 세포 유형 또는 세포 집단을 지칭할 때 “농축(enriching)”은 예를 들어 조성물에서 세포의 총 수 또는 조성물의 부피와 비교하여, 또는 다른 세포 유형에 대비하여, 예컨대 집단 또는 세포에 의해 발현되는 표지자에 기초한 양성 선택에 의해, 또는 고갈될 세포 집단 또는 세포에 존재하지 않는 표지자에 기초한 음성 선택에 의해 세포 유형 또는 집단의 수 또는 백분율을 증가시키는 것을 지칭한다. 상

기 용어는 조성물로부터 다른 세포, 세포 유형, 또는 집단의 완전한 제거가 필요하지 않으며 농축된 조성물에서 세포가 100% 또는 거의 100%로 존재하도록 농축될 필요는 없다.

[0745] 본원에서 사용될 때, 세포 또는 세포 집단이 특정 표지자에 대해 “양성(positive)”이라는 진술은 특정 표지자, 통상적으로 표면 표지자가 세포 상에 또는 세포 내에 검출 가능하게 존재함을 지칭한다. 표면 표지자를 언급할 때, 상기 용어는 유세포 분석에 의해, 예를 들어, 이 표지자에 특이적으로 결합하는 항체로 염색하고 상기 항체를 검출함으로써 검출된 바와 같은 표면 발현의 존재를 지칭하며, 이 염색은 달리 동일한 조건 하에서 동종형-매칭된 대조군으로 또는 형광 마이너스 1(FMO) 게이팅 대조군으로 같은 절차를 수행하여 검출된 염색보다 실질적으로 상위 수준에서 및/또는 표지자에 대해 양성인 것으로 알려진 세포에 대한 것과 실질적으로 유사한 수준에서 및/또는 표지자에 대해 음성인 것으로 알려진 세포에 대한 것보다 실질적으로 더 높은 수준에서 유세포 분석에 의해 검출 가능하다.

[0746] 본원에서 사용될 때, 세포 또는 세포 집단이 특정 표지자에 대해 “음성(negative)”이라는 진술은 특정 표지자, 통상적으로 표면 표지자가 세포 상에 또는 세포 내에 실질적으로 검출 가능하게 존재하지 않음을 지칭한다. 표면 표지자를 언급할 때, 상기 용어는 유세포 분석에 의해, 예를 들어, 이 표지자에 특이적으로 결합하는 항체로 염색하고 상기 항체를 검출함으로써 검출된 바와 같은 표면 발현의 부재를 지칭하며, 이 염색은 달리 동일한 조건 하에서 동종형-매칭된 대조군으로 또는 형광 마이너스 1(FMO) 게이팅 대조군으로 같은 절차를 수행하여 검출된 염색보다 실질적으로 상위 수준에서 및/또는 표지자에 대해 양성인 것으로 알려진 세포에 대한 것보다 실질적으로 더 낮은 수준에서 및/또는 표지자에 대해 음성인 것으로 알려진 세포에 대한 것과 비교하여 실질적으로 유사한 수준에서 유세포 분석에 의해 검출되지 않는다.

[0747] 본원에서 사용될 때, 용어 “벡터(vector)”는 이에 연결된 다른 핵산을 번식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자가-복제 핵산 구조로서의 벡터 및 이것이 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 편입된 벡터를 포함한다. 특정 벡터는 자신이 작동 가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터를 본원에서 “발현 벡터(expression vector)”로 지칭한다.

[0748] V. 예시적인 구현예

[0749] 1. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,

[0750] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,

[0751] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 포함하고;

[0752] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 그리고

[0753] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포인 것을 특징으로 하는, 방법.

[0754] 2. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,

[0755] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,

[0756] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포를 약 1:2.5 내지 약 5:1의 비로 포함하고;

[0757] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;

[0758] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 $CD3^{+}$ 세포인 것을 특징으로 하는, 방법.

[0759] 3. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,

[0760] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,

- [0761] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;
- [0762] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0763] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며, 그리고
- [0764] 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0765] 4. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0766] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0767] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;
- [0768] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0769] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며, 그리고
- [0770] 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 이고/거나 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0771] 5. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0772] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0773] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;
- [0774] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0775] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며, 그리고
- [0776] 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율(fraction)은 평균적으로 (약) 0.9 미만인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0777] 6. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0778] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0779] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;
- [0780] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0781] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며, 그리고
- [0782] 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.4개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0783] 7. 구현예 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 50×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200

$\times 10^6$ 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

- [0784] 8. 구현예 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 70×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0785] 9. 구현예 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 200×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0786] 10. 구현예 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 160×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0787] 11. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0788] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0789] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포를 포함하고;
- [0790] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 40×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 그리고
- [0791] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^+$ 세포인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0792] 12. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0793] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0794] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포를 약 1:2.5 내지 약 5:1의 비로 포함하고;
- [0795] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0796] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 90%는 $CD3^+$ 세포인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0797] 13. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0798] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0799] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포를 포함하고;
- [0800] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 10×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고; 그리고
- [0801] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^+$ 세포인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0802] 14. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0803] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0804] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포를 포함하고;
- [0805] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;

- [0806] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며, 그리고
- [0807] 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0808] 15. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0809] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0810] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;
- [0811] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 100×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0812] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며, 그리고
- [0813] 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 이고/거나 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0814] 16. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0815] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0816] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;
- [0817] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0818] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이고;
- [0819] 그리고
- [0820] 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이트-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0821] 17. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0822] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0823] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;
- [0824] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0825] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^{+}$ 세포이며, 그리고
- [0826] 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율(fraction)은 평균적으로 (약) 0.9 미만인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0827] 18. 다발성 골수종(MM)을 치료하는 방법으로서,
- [0828] 상기 방법은 MM이 있거나 있는 것으로 의심되는 대상체에게 B 세포 성숙 항원(BCMA)를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,
- [0829] 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD8^{+}$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD4^{+}$ T 세포를 포함하고;

- [0830] 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 80×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하고;
- [0831] 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD3^+$ 세포이며, 그리고
- [0832] 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.4개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0833] 19. 구현에 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포를 약 1:2 내지 약 4:1, 약 1:1.5 내지 약 2:1, 또는 (약) 1:1의 비로 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0834] 20. 구현에 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 상기 CAR을 발현하는 $CD4^+$ T 세포 및 상기 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포를 약 5:1 내지 약 2:1, 약 4:1 내지 약 2:1, 약 3:1 내지 약 2:1, (약) 5:1, (약) 4:1, (약) 3:1, 또는 (약) 2:1의 비로 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0835] 21. 구현에 1 내지 6 및 11 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 5×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 10×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0836] 22. 구현에 1 내지 6 및 11 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 10×10^6 개의 CAR-발현 T 세포 내지 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포(수치 포함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0837] 23. 구현에 1 내지 6 및 11 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 20×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0838] 24. 구현에 1 내지 6 및 11 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 30×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0839] 25. 구현에 1 내지 6 및 11 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물은 (약) 40×10^6 개의 CAR-발현 T 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0840] 26. 구현에 1 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 세포의 적어도 또는 적어도 약 91%, 적어도 또는 적어도 약 92%, 적어도 또는 적어도 약 93%, 적어도 또는 적어도 약 94%, 적어도 또는 적어도 약 95%, 또는 적어도 또는 적어도 약 96%는 $CD3^+$ 세포인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0841] 27. 구현에 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 2% 내지 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0842] 28. 구현에 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 5% 내지 (약) 10%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0843] 29. 구현에 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 10% 내지 (약) 15%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0844] 30. 구현에 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 15% 내지 (약) 20%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0845] 31. 구현에 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 20% 내지 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0846] 32. 구현에 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 (약) 5%, (약) 10%, (약) 15%, (약) 20%, (약) 25%, 또는 (약) 30%는 세포자멸사의 표지자, 선택적으로 아넥신 V 또는 활성 카스파제 3을 발현

하는 것을 특징으로 하는, 방법.

- [0847] 33. 구현예 1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 80% 내지 (약) 85%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0848] 34. 구현예 1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 85% 내지 (약) 90%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0849] 35. 구현예 1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 90% 내지 (약) 95%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0850] 36. 구현예 1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 95% 내지 (약) 99%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0851] 37. 구현예 1 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 나이브-유사 또는 중심 기억 표현형인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0852] 38. 구현예 1 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 나이브-유사 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 표지자에 대해 표면 양성인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0853] 39. 구현예 38에 있어서, 나이브-유사 또는 중심 기억 T 세포 상에서 발현되는 상기 표지자는 CD45RA, CD27, CD28, 및 CCR7로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0854] 40. 구현예 1 내지 39 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$, $CD27^{+}CCR7^{+}$, 및/또는 $CD62L^{-}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0855] 41. 구현예 1 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 80% 내지 (약) 85%, (약) 85% 내지 (약) 90%, (약) 90% 내지 (약) 95%, 또는 (약) 95% 내지 (약) 99%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$, $CD27^{+}CCR7^{+}$, 및/또는 $CD62L^{-}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0856] 42. 구현예 1 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 80%, (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$, $CD27^{+}CCR7^{+}$, 및/또는 $CD62L^{-}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0857] 43. 구현예 1 내지 42 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 (약) 80%, (약) 85%, (약) 90%, (약) 95%, 또는 (약) 99%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0858] 44. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0859] 45. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0860] 46. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0861] 47. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0862] 48. 구현예 1 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.

- [0863] 49. 구현예 1 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0864] 50. 구현예 1 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0865] 51. 구현예 1 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0866] 52. 구현예 1 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0867] 53. 구현예 1 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD4^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0868] 54. 구현예 1 내지 53 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0869] 55. 구현예 1 내지 53 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0870] 56. 구현예 1 내지 53 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0871] 57. 구현예 1 내지 53 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0872] 58. 구현예 1 내지 53 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는 $CCR7^{+}CD45RA^{+}$ 또는 $CCR7^{+}CD45RA^{-}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0873] 59. 구현예 1 내지 58 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 50%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0874] 60. 구현예 1 내지 58 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 60%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0875] 61. 구현예 1 내지 58 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 70%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0876] 62. 구현예 1 내지 58 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 80%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0877] 63. 구현예 1 내지 58 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 $CD8^{+}CAR^{+}$ T 세포의 적어도 또는 적어도 약 85%는 $CD27^{+}CCR7^{+}$ 인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0878] 64. 구현예 1 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^{+} T 세포의 총 VCN에 대한 통합 백터 카피수 (iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.9 내지 (약) 0.8인 것을 특징으로 하는, 방법.

- [0879] 65. 구현예 1 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율(fraction)은 평균적으로 (약) 0.8 미만인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0880] 66. 구현예 1 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.8 내지 (약) 0.7인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0881] 67. 구현예 1 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.7 내지 (약) 0.6인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0882] 68. 구현예 1 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.6 내지 (약) 0.5인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0883] 69. 구현예 1 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 총 VCN에 대한 통합 벡터 카피수(iVCN)의 분율은 평균적으로 (약) 0.5 내지 (약) 0.4인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0884] 70. 구현예 1 내지 69 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.8개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0885] 71. 구현예 1 내지 69 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 0.8개 카피 내지 2배체 게놈 당 1.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0886] 72. 구현예 1 내지 69 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 1.0개 카피 내지 2배체 게놈 당 1.5개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0887] 73. 구현예 1 내지 69 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물 중 CAR^+ T 세포의 통합 벡터 카피수(iVCN)는 평균적으로 2배체 게놈 당 (약) 1.5개 카피 내지 2배체 게놈 당 2.0개 카피(수치 포함)인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0888] 74. 구현예 1 내지 73 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 적어도 3회의 선행 항골수종 치료 계획을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0889] 75. 구현예 1 내지 74 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 자가 줄기세포 이식(ASCT); 면역 조절제; 프로테아좀 억제제; 및 항-CD38 제제 중에서 선택된, 단, 상기 대상체는 상기 요법들 중 하나 이상에 대해 후보가 아니거나 사용이 금지된 것이 아닌 한, 3개 이상의 요법, 선택적으로 4개 이상의 선행 요법을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0890] 76. 구현예 1 내지 75 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는, 선택적으로 자가 줄기세포 이식(ASCT); 면역 조절제 및 프로테아좀 억제제(어느 하나 단독으로 또는 병용하여); 및 항-CD38 제제 중에서 선택된, 3개 이상의 요법, 선택적으로 4개 이상의 선행 요법을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0891] 77. 구현예 1 내지 76 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 다음 요법들: 자가 줄기세포 이식(ASCT); 면역 조절제 및 프로테아좀 억제제를 포함하는 계획; 및 항-CD38 제제 중 3개 모두를 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0892] 78. 구현예 1 내지 77 중 어느 하나에 있어서, 골수 이식과 함께 또는 골수 이식 없이 그리고 유지 요법과 함께 또는 유지 요법 없이 유도(induction)는 선행 항골수종 치료 계획의 수를 판정하기 위한 하나의 요법으로 고려되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0893] 79. 구현예 1 내지 78 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 T 세포의 조성물의 투여 시 또는 투여 전에, 상기 대상체는 상기 지난 항골수종 치료 계획에 대해 불응성인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0894] 80. 구현예 1 내지 79 중 어느 하나에 있어서, 불응성 골수종은 상기 지난 항-골수종 치료 계획으로 치료를 완료하고, 60일 동안 또는 그 이내에, 최종 투여량으로부터 측정된, 문서화된 진행성 병변으로서 정의되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0895] 81. 구현예 75 내지 80 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 조절제는 탈리도마이드, 레날리도마이드, 및 포말리

도마이드 중에서, 단독으로 또는 병용으로, 선택되는 것을 특징으로 하는, 방법.

- [0896] 82. 구현예 75 내지 81 중 어느 하나에 있어서, 상기 프로테아좀 억제제는 보르테조미, 카필조미, 및 역사조미 중에서, 단독으로 또는 병용으로, 선택되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0897] 83. 구현예 75 내지 82 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 상기 면역 조절제 요법 및/또는 상기 프로테아좀 억제제 요법의 각각에 대해, 상기 요법에 대한 최상의 반응이 진행성 병변이 아닌 한, 적어도 2회의 연속 치료 주기를 거친 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0898] 84. 구현예 75 내지 83 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-CD38 제제는 항-CD38 항체인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0899] 85. 구현예 75 내지 84 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-CD38 제제는 다라투무맙이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0900] 86. 구현예 75 내지 85 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-CD38 제제는 병용 요법의 일부로 또는 단일요법으로 사용되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0901] 87. 구현예 1 내지 86 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포의 용량 투여 시 및/또는 림프구 고갈 화학 요법 또는 백혈구 성분채집술 시에, 상기 대상체는 형질 세포성 백혈병(plasma cell leukemia, PCL)의 활성 또는 병력을 갖지 않았던 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0902] 88. 구현예 1 내지 87 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 다발성 골수종에 대해 적어도 3회 또는 적어도 4회의 선행 요법 이후 재발했거나 불응성이 된 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0903] 89. 구현예 1 내지 88 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 다발성 골수종 진단으로 대략 4년 또는 2년 내지 15년 또는 2년 내지 12년의 시간을 고생한 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0904] 90. 구현예 1 내지 89 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 다발성 골수종에 대해 약 10개 또는 3개 내지 15개 또는 4개 내지 15개의 선행 요법을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0905] 91. 구현예 1 내지 90 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 보르테조미, 카필조미, 레날리도마이드, 포말리도마이드 및/또는 항-CD38 단클론 항체에 대해 불응성이었거나 반응하지 않았던 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0906] 92. 구현예 1 내지 91 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 선행 자가 줄기세포 이식을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0907] 93. 구현예 1 내지 91 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 ASCT에 대한 부적격으로 인해, 예를 들어, 연령 또는 다른 문서화된 이유로 인해, 선행 자가 줄기세포 이식(ASCT)을 받지 않았던 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0908] 94. 구현예 1 내지 93 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 시, 상기 대상체는 IMWG 고위험 세포 유전학적 특성을 가진 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0909] 95. 구현예 1 내지 94 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 MM, 형질 세포성 백혈병, 발덴스트롬 거대글로블린혈증, POEMS(다발성 신경병증, 장기종대, 내분비병증, 단클론 단백질, 피부 변화) 증후군, 및/또는 임상적으로 유의한 아밀로이드증의 중추신경계 침습이 없는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0910] 96. 구현예 1 내지 95 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 선행 CAR T 세포 또는 유전자 변형 T 세포 요법을 받지 않은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0911] 97. 구현예 1 내지 96 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 항-BCMA 단클론 항체 또는 이중특이성 항체와 같은 선행 BCMA-표적화 요법을 받지 않은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0912] 98. 구현예 1 내지 97 중 어느 하나에 있어서,
- [0913] 상기 조작된 T 세포의 조성물을 제조하기 위해 상기 대상체로부터 백혈구 성분채집술 샘플을 수득하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0914] 99. 구현예 98에 있어서, 상기 대상체는 코르티코스테로이드의 치료 용량을, 선택적으로 상기 백혈구 성분채집술의 시점 전 (약) 14일 이내에, 받지 않은 것을 특징으로 하는, 방법.

- [0915] 100. 구현예 98 또는 99에 있어서, 상기 대상체는 백혈구 성분채집술 4주 이내에 면역 억제 요법, 예를 들어, 칼시뉴린 억제제, 메토트렉세이트 또는 다른 화학 요법제, 미코페놀레이트, 라파마이신, 면역 억제 항체들(예컨대, 항-TNF, 항-IL6, 또는 항-IL6R)을 받지 않은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0916] 101. 구현예 98 내지 100 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 상기 백혈구 성분채집술의 시점 전 (약) 6개월 이내에, 자가 줄기세포 이식을 받지 않은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0917] 102. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 선행 요법에 반응하여 완전 관해(CR)를 달성하지 못한 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0918] 103. 구현예 1 내지 102 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 선행 요법에 반응하여 객관적 반응(부분 반응(PR) 또는 더 나아짐)을 달성하지 못한 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0919] 104. 구현예 1 내지 103 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 0 또는 1의 ECOG PS(Eastern Cooperative Oncology Group 수행도)를 가지고 있거나 가진 것으로 확인된 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0920] 105. 구현예 1 내지 104 중 어느 하나에 있어서, 상기 CAR은:
- [0921] (a) 세포외 항원 결합 도메인-상기 세포외 항원 결합 도메인은:
- [0922] 서열 번호: 116에 제시된 서열 내에 함유된 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-H2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-H3)을 포함하는 가변 중쇄(V_H) 및 서열 번호: 119에 제시된 서열 내에 함유된 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-L2) 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-L3)을 포함하는 가변 경쇄(V_L); 각각 서열 번호: 97, 101 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 각각 서열 번호: 96, 100 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 각각 서열 번호: 95, 99 및 103에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 105, 107 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 각각 서열 번호: 94, 98 및 102에 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 포함하는 V_H 및 각각 서열 번호: 104, 106 및 108에 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는 V_L ; 또는 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 및 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 V_L 을 포함함—;
- [0923] (b) IgG4/2 키메라 힌지 또는 변형된 IgG4 힌지; IgG2/4 키메라 C_H2 영역; 및 IgG4 C_H3 영역;을 포함하는 스페이서—이는 선택적으로 약 228개 아미노산 길이임—; 또는 서열 번호: 174에 제시된 스페이서;
- [0924] (c) 막관통 도메인—선택적으로 인간 CD28 유래 막관통 도메인—; 및
- [0925] (d) CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 세포질 신호전달 도메인 및 T 세포 공자극 분자의 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 신호전달 부분을 포함하는 공자극 신호전달 영역 을 포함하는 세포내 신호전달 영역;
- [0926] 을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0927] 106. 구현예 105에 있어서, 상기 V_H 는 서열 번호: 116의 아미노산 서열이거나 이를 포함하고; 상기 V_L 은 서열 번호: 119의 아미노산 서열이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0928] 107. 구현예 105 또는 106에 있어서, 상기 세포외 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0929] 108. 구현예 105 내지 107 중 어느 하나에 있어서, 상기 V_H 및 상기 V_L 은 가요성 링커에 의해 연결되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0930] 109. 구현예 108에 있어서, 상기 scFv는 아미노산 서열 GGGGSGGGSGGGGS(서열 번호: 1)을 포함하는 링커를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0931] 110. 구현예 105 내지 109 중 어느 하나에 있어서, 상기 V_H 는 상기 V_L 에 대한 카르복시 말단인 것을 특징으로 하는, 방법.

- [0932] 111. 구현예 105 내지 110 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포외 항원 결합 도메인은 서열 번호: 114의 아미노산 서열 또는 서열 번호: 114의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0933] 112. 구현예 105 내지 111 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포외 항원 결합 도메인은 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0934] 113. 구현예 105 내지 112 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포외 항원 결합 도메인을 암호화하는 핵산은 (a) 서열 번호: 113의 뉴클레오타이드의 서열; (b) 이에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드의 서열; 또는 (a) 또는 (b)의 퇴화 서열;을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0935] 114. 구현예 105 내지 113 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포외 항원 결합 도메인을 암호화하는 상기 핵산은 서열 번호: 115의 뉴클레오타이드의 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0936] 115. 구현예 105 내지 114 중 어느 하나에 있어서, 상기 V_H 는 상기 V_L 에 대한 아미노 말단인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0937] 116. 구현예 105 내지 115 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포질 신호전달 도메인은 서열 번호: 143에 제시된 서열 또는 서열 번호: 143에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0938] 117. 구현예 105 내지 116 중 어느 하나에 있어서, 상기 공자극 신호전달 영역은 CD28, 4-1BB 또는 ICOS의 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 신호전달 부분을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0939] 118. 구현예 105 내지 117 중 어느 하나에 있어서, 상기 공자극 신호전달 영역은 4-1BB, 선택적으로 인간 4-1BB의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0940] 119. 구현예 105 내지 118 중 어느 하나에 있어서, 상기 공자극 신호전달 영역은 서열 번호: 4에 제시된 서열 또는 서열 번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0941] 120. 구현예 105 내지 119 중 어느 하나에 있어서, 상기 공자극 신호전달 영역은 상기 막관통 도메인과 CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 상기 세포질 신호전달 도메인 사이에 존재하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0942] 121. 구현예 105 내지 120 중 어느 하나에 있어서, 상기 막관통 도메인은 인간 CD28 유래의 막관통 도메인이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0943] 122. 구현예 105 내지 121 중 어느 하나에 있어서, 상기 막관통 도메인은 서열 번호: 138에 제시된 서열 또는 서열 번호: 138에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0944] 123. 구현예 105 내지 122 중 어느 하나에 있어서, 상기 CAR은 그 N 말단에서 C 말단까지 상기 세포외 항원 결합 도메인, 상기 스페이서, 상기 막관통 도메인 및 상기 세포내 신호전달 영역을 순서대로 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0945] 124. 구현예 105 내지 123 중 어느 하나에 있어서, 상기 CAR은:
- [0946] (a) 세포외 항원 결합 도메인—상기 세포외 항원 결합 도메인은: 서열 번호: 116에 제시된 서열 내에 함유된 중쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-H1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-H2) 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-H3)을 포함하는 가변 중쇄(V_H) 및 서열 번호: 119에 제시된 서열 내에 함유된 경쇄 상보성 결정 영역 1(CDR-L1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(CDR-L2) 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(CDR-L3)을 포함하는 가변 경쇄(V_L)를 포함함—;
- [0947] (b) 변형된 IgG4 힌지; IgG2/4 키메라 C_H2 영역; 및 약 228개 아미노산 길이인 IgG4 C_H3 영역;을 포함하는 스페이서;
- [0948] (c) 인간 CD28 유래 막관통 도메인; 및
- [0949] (d) CD3-제타(CD3 ζ) 사슬의 세포질 신호전달 도메인 및 4-1BB의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;

- [0950] 을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0951] 125. 구현예 124에 있어서, 상기 CAR은:
- [0952] (a) 서열 번호: 114에 제시된 서열 또는 서열 번호: 114의 아미노산 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;
- [0953] (b) 서열 번호: 174에 제시된 서열 또는 서열 번호: 174에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 스페이서;
- [0954] (c) 서열 번호: 138에 제시된 서열 또는 서열 번호: 138에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 막관통 도메인; 및
- [0955] (d) 서열 번호: 143에 제시된 서열 또는 서열 번호: 143에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 세포질 신호전달 및 서열 번호: 4에 제시된 서열 또는 서열 번호: 4에 제시된 서열에 대해 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함하는 공자극 신호전달 영역 을 포함하는 세포내 신호전달 영역;
- [0956] 을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0957] 126. 구현예 124 또는 125에 있어서, 상기 CAR은:
- [0958] (a) 서열 번호: 114에 제시된 서열을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;
- [0959] (b) 서열 번호: 174에 제시된 서열을 포함하는 스페이서;
- [0960] (c) 서열 번호: 138에 제시된 서열을 포함하는 막관통 도메인; 및
- [0961] (d) 서열 번호: 143에 제시된 서열을 포함하는 세포질 신호전달 및 서열 번호: 4에 제시된 서열을 포함하는 공자극 신호전달 영역을 포함하는 세포내 신호전달 영역;
- [0962] 을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0963] 127. 구현예 124 내지 126 중 어느 하나에 있어서, 상기 CAR은 서열 번호: 19에 제시된 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법. 128.
- [0964] 구현예 1 내지 127 중 어느 하나에 있어서, 인간 세포에서, 선택적으로 인간 T 세포에서 상기 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 발현 이후, 상기 폴리뉴클레오타이드로부터 전사된 RNA, 선택적으로 메신저 RNA(mRNA)는 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%의 RNA 동질성을 나타내는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0965] 129. 구현예 1 내지 128 중 어느 하나에 있어서, 상기 CAR은 서열 번호: 13에 제시된 서열 또는 이에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0966] 130. 구현예 1 내지 129 중 어느 하나에 있어서, 상기 CAR은 서열 번호: 13에 제시된 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0967] 131. 구현예 1 내지 130 중 어느 하나에 있어서, 표면 BCMA를 발현하는 세포에 노출 후 상기 세포외 항원 결합 도메인 및/또는 상기 CAR의 결합 또는 CAR의 기능 또는 활성을 나타내는 측정값이 용해성(soluble) 또는 탈피형(shed form) BCMA의 존재 하에 감소 또는 차단되지 않거나 또는 실질적으로 감소 또는 차단되지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0968] 132. 구현예 131에 있어서, 상기 용해성 또는 탈피형 BCMA의 농도 또는 양은 상기 대상체 또는 다발성 골수종 환자의 혈청 또는 혈액 또는 혈장에 또는 평균적으로 다발성 골수종 환자 집단에 존재하는 농도 또는 양에 해당하거나, 또는 상기 용해성 또는 탈피형 BCMA의 농도 또는 양에서 기준 항-BCMA 재조합 수용체, 선택적으로 기준-항 BCMA CAR을 발현하는 세포에 대해 상기 결합 또는 측정치가 같은 분석에서 감소 또는 차단되거나 또는 실질적으로 감소 또는 차단되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0969] 133. 구현예 1 내지 132 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 전에, 상기 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 20 내지 40mg/m²(상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) 30mg/m²의 플루다라빈 및/또는

- [0970] 2 내지 4일 동안 매일 (약) 200 내지 400mg/m²(상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) 300mg/m²의 시클로포스파미드의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받은 것을 특징으로 하는 방법.
- [0971] 134. 구현예 1 내지 133 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 전에, 상기 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 20 내지 40mg/m²(상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) 30mg/m²의 플루다라빈의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0972] 135. 구현예 1 내지 134 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여 전에, 상기 대상체는 2 내지 4일 동안 매일 (약) 200 내지 400mg/m²(상기 대상체의 체표면적), 선택적으로 (약) 300mg/m²의 시클로포스파미드의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0973] 136. 구현예 1 내지 135 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 3일 동안 매일 (약) 30mg/m²(상기 대상체의 체표면적)의 플루다라빈 및 매일 (약) 300mg/m²(상기 대상체의 체표면적)의 시클로포스파미드의 투여를 포함하는 림프구 고갈 요법을 받은 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0974] 137. 구현예 1 내지 136 중 어느 하나에 있어서, 상기 방법은, 선택적으로 투여 개시 후 지정된 시점에, 상기 질병 또는 장애를 갖는 대상체들의 코호트(cohort)에서 대상체들 중 적어도 하나에서 또는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%에서 명시된 반응 또는 결과를 달성할 수 있고, 여기서 상기 반응은 객관적 반응(objective response, OR), 완전 반응(complete response, CR), 엄격한 완전 반응(stringent complete response, sCR), 매우 양호한 부분 반응(very good partial response, VGPR), 부분 반응(partial response, PR) 및 최소 반응(minimal response, MR)으로 구성된 군에서 선택되고/거나; 상기 반응 또는 결과는 OR이거나 이를 포함하고/거나; 상기 반응 또는 결과는 CR이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0975] 138. 구현예 137에 있어서, 상기 대상체들의 코호트는 상기 방법에 의해 치료된 대상체와 적어도 같은 수의 실험 요법, 예후 또는 예후 인자, 아형, 2차 침습 또는 기타 명시된 환자 특성 또는 특성들을 가진 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0976] 139. 구현예 137 또는 138에 있어서, 상기 반응 또는 결과는 (약) 3, 6, 9 또는 12개월 넘는 기간 동안 지속되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0977] 140. 구현예 137 내지 139 중 어느 하나에 있어서, 상기 지정된 시점 이후 (약) 3, 6, 9 또는 12개월에 판정된 반응 또는 결과는 상기 지정된 시점에 판정된 반응 또는 결과와 비교하여 동일하거나 개선된 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0978] 141. 구현예 137 내지 140 중 어느 하나에 있어서, 상기 반응 또는 결과는 신경 독성의 부재, 사이토카인 방출 증후군(CRS)의 부재, 및/또는 대식세포 활성화 증후군/혈구탐식성 림프조직구증식증(MAS/HLH)의 부재이거나 이를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0979] 142. 구현예 1 내지 141 중 어느 하나에 있어서, 상기 방법은 선택적으로 투여 개시 후 지정된 시점에, 상기 질병 또는 장애를 갖는 대상체들의 코호트(cohort)에서 대상체들 중 적어도 하나에서 또는 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%에서 명시된 독성 결과를 초래하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0980] 143. 구현예 142에 있어서, 상기 명시된 독성 결과는 신경 독성, 사이토카인 방출 증후군(CRS), 및/또는 대식세포 활성화 증후군/혈구탐식성 림프조직구증식증(MAS/HLH)인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0981] 144. 구현예 142 또는 143에 있어서, 상기 명시된 독성 결과는 신경 독성이고, 신경 독성은 상기 코호트 내 대상체들 중 적어도 60%, 70% 또는 80%에서 초래되지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0982] 145. 구현예 142 내지 144 중 어느 하나에 있어서, 상기 명시된 독성 결과는 3급 이상 또는 4급 이상 신경 독성인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0983] 146. 구현예 142 또는 145에 있어서, 상기 명시된 독성 결과는 3급 이상의 신경 독성이고, 3급 이상 신경 독성은 상기 코호트 내 대상체들 중 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95%에서 초래되지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0984] 147. 구현예 142 또는 143에 있어서, 상기 명시된 독성 결과는 사이토카인 방출 증후군(CRS)이고, 선택적으로 3

급 이상, 또는 4급 이상의 사이토카인 방출 증후군(CRS)인 것을 특징으로 하는, 방법.

- [0985] 148. 구현예 147에 있어서, 상기 CRS는 상기 코호트 내 대상체들 중 적어도 15%, 20%, 25% 또는 30%에서 초래되지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0986] 149. 구현예 137 내지 148 중 어느 하나에 있어서, 상기 지정된 시점은 상기 투여 개시 후 (약) 1개월, 3개월, 6개월, 9개월, 또는 12개월인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0987] 150. 구현예 1 내지 149 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포의 조성물은 비경구적으로, 선택적으로 정맥내 투여되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0988] 151. 구현예 1 내지 150 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 인간 대상체인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0989] 152. 구현예 1 내지 151 중 어느 하나에 있어서, 조작된 T 세포를 포함하는 상기 조성물은 1차 T 세포를 포함하는 투입 조성물을 복수의 아비딘, 스트렙타비딘, 아비딘 뮤테인, 또는 스트렙타비딘 뮤테인 분자들을 포함하는 올리고머성 입자 시약을 포함하는 자극 시약과 T 세포를 자극하는 조건에서 노출시키고, 이에 의해 자극된 집단을 생성하는 단계를 포함하는 제조 공정에 의해 생산되고, 여기서 상기 자극 시약은 TCR 복합체의 하나 이상의 성분의 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인 및 하나 이상의 공자극 분자의 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인을 활성화할 수 있는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0990] 153. 구현예 152에 있어서, 상기 제조 공정은 상기 자극된 집단의 T 세포 내로 BCMA를 표적화하는 CAR을 암호화하는 이중 폴리뉴클레오타이드를 도입하고, 그에 의해 형질전환된 세포의 집단을 생성하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0991] 154. 구현예 153에 있어서, 상기 제조 공정은 상기 형질전환된 세포의 집단을 최대 96시간 동안 인큐베이션하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0992] 155. 구현예 154에 있어서, 상기 인큐베이션하는 단계는 하나 이상의 재조합 사이토카인이 결합된 기본 배지에서 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0993] 156. 구현예 154 또는 155에 있어서, 상기 제조 공정은 상기 형질전환된 집단의 T 세포를 수확하고, 이에 의해 조작된 세포의 조성물을 생산하는 단계를 더 포함하는, 방법.
- [0994] 157. 구현예 156에 있어서, 상기 수확은 상기 자극 시약에 노출이 개시된 후 24 내지 120시간 시점에(수치 포함) 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0995] 158. 구현예 156 또는 157에 있어서, 상기 수확은 상기 자극 시약에 노출이 개시된 후 48 내지 120시간 시점에(수치 포함) 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0996] 159. 구현예 156 내지 158 중 어느 하나에 있어서, 상기 수확은 상기 계능에서 통합 벡터가 검출되는 시점에 하지만 2배체 계능 당 안정적 통합 벡터 카피수(iVCN)를 달성하기 전에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0997] 160. 구현예 156 내지 159 중 어느 하나에 있어서, 상기 수확은 수확 시 생존 세포의 총 수가 상기 자극된 집단의 총 생존 세포의 수의 (약) 3배를 넘기 전 시점에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0998] 161. 구현예 160에 있어서, 상기 수확은 수확 시 생존 세포의 총 수가 상기 자극된 집단의 총 생존 세포의 수의 (약) 3배이거나, (약) 2배이거나, 또는 이와 동일하거나 거의 동일한 시점에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [0999] 162. 구현예 156 내지 161 중 어느 하나에 있어서, 상기 수확은, $CD27^+CCR7^+$ 세포의 백분율이 집단에서 총 T 세포, 집단에서 총 $CD3^+$ T 세포, 집단에서 총 $CD4^+$ T 세포, 또는 집단에서 총 $CD8^+$ T 세포, 또는 이들의 CAR-발현 세포 중 (약) 50%보다 큰 시점에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [1000] 163. 구현예 156 내지 162 중 어느 하나에 있어서, 상기 수확은, $CD45RA^+CCR7^+$ 및 $CD45RA^-CCR7^+$ 세포의 백분율이 집단에서 총 T 세포, 집단에서 총 $CD3^+$ T 세포, 집단에서 총 $CD4^+$ T 세포, 또는 집단에서 총 $CD8^+$ T 세포, 또는 이들의 CAR-발현 세포 중 (약) 60%보다 큰 시점에 수행되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [1001] 164. 구현예 1 내지 163 중 어느 하나에 있어서, 상기 투여된 조성물 내 세포는 미리 정해진 특징을 나타내는 산출 조성물을 생산하는 제조 공정에 의해 생산되고, 여기서 상기 제조 공정의 반복은 복수의 상이한 개별 대상

체들 사이에서 수행될 때, 선택적으로 인간 생물학적 샘플로부터, 복수의 상기 산출 조성물을 생산하고, 상기 복수의 산출 조성물 중 상기 산출 조성물의 상기 미리 정해진 특징은:

- [1002] 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 기억 표현형의 세포의 평균 백분율;
- [1003] 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 중심 기억 표현형의 세포의 평균 백분율;
- [1004] 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 CD27+, CD28+, CCR7+, CD45RA-, CD45RO+, CD62L+, CD3+, CD95+, 그랜자임 B-, 및/또는 CD127+인 세포의 평균 백분율;
- [1005] 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물 내 CCR7+/CD45RA- 또는 CCR7+/CD45RO+인 세포의 평균 백분율;
- [1006] 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물의 상기 조작된 CD4+ T 세포, 선택적으로 CAR+CD4+ T 세포 내 중심 기억 CD4+ T 세포의 평균 백분율;
- [1007] 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물의 상기 조작된 CD8+ T 세포, 선택적으로 CAR+CD8+ T 세포 내 중심 기억 CD8+ T 세포의 평균 백분율; 및/또는
- [1008] 약 40% 내지 약 65%, 약 40% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 55%, 약 55% 내지 약 60%, 또는 약 60% 내지 약 65%인, 상기 복수의 산출 조성물의 상기 조작된 T 세포, 선택적으로 CAR+ T 세포 내 중심 기억 T 세포, 선택적으로 CD4+ 중심 기억 T 세포 및 CD8+ 중심 기억 T 세포의 평균 백분율;에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [1009] 165. 구현예 164에 있어서, 상기 투여되는 조성물은, 복수의 상이한 개별 대상체 중에 수행되는 상기 인간 생물학적 샘플들의 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 99%, 약 100%, 또는 100%에서 미리 정해진 특징, 선택적으로 상기 산출 조성물에서 CAR을 발현하는 세포의 임계 수를 나타내는 상기 산출 조성물을 생산하는 제조 공정에 의해 생산되는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [1010] 166. 구현예 152 내지 165 중 어느 하나에 있어서, 상기 유전자 조작된 세포를 포함하는 조성물은 상기 제조 공정으로부터 유래된 잔류 비드를 함유하지 않는 것을 특징으로 하는, 방법.
- [1011] 167. 구현예 1 내지 166 중 어느 하나에 있어서, 상기 MM은 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종(r/r MM)인 것을 특징으로 하는, 방법.
- [1012] 168. BCMA를 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 유전자 조작된 세포를 포함하는 조성물, 및 구현예 1 내지 167 중 어느 하나의 방법에 따라 상기 세포의 조성물을 투여하기 위한 지침을 포함하는, 제품.

[1013] VI. 실시예

[1014] 하기 실시예들은 예시적인 목적으로만 포함되며 본 발명의 범위를 한정하려는 의도가 있는 것은 아니다.

[1015] 실시예 1: 비증폭 공정을 사용하여 생성된 CAR+ T 세포를 함유하는 T 세포 조성물.

[1016] 항-BCMA 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 함유하는 1차 T 세포의 조작된 조성물을, 바이러스 벡터로 형질도입하기 전에 T 세포를 활성화시키기 위해 항-CD3/항-CD28 Fab 접합된 올리고머성 시약으로 구성된 자극 시약을 이용하지만 형질도입된 세포의 증폭을 위한 후속 단계를 포함하지 않는 공정에 의해 생산하였다. 비증폭 공정 A 및 비증폭 공정 B로 표기되는 2개의 유사한 비증폭 공정을 사용하여 CAR+ T 세포 조성물을 생성하였다. 비증폭 공정은 육성 단계의 시작과 비교하여 육성 단계의 끝에서 생존 세포의 총 수를 증가(예를 들어, 증폭)시키기 위한 목적으로 형질도입 후 육성 단계를 포함하지 않았다. 인큐베이션 조건이 세포 집단을 증폭시키기 위해 수행되지 않았지만, 수확된 조성물은 인큐베이션의 시작과 비교하여 증폭을 겪었거나 세포 수의 증가를 나타낼 수 있다. 비교를 위해, 동일한 공여체 유래의 T 세포를 형질도입 후 증폭을 위해 세포를 육성하는 공정에 의해 조작하였다. 생성된 BCMA-표적화 CAR 치료용 T 세포 조성물을 표현형 및 활성에 대해 평가하였다.

[1017] 모든 공정은 동일한 BCMA-표적화 CAR로 T 세포를 조작하는 것을 포함한다. 상기 CAR은 scFv 결합 도메인, IgG-유래 스페이서, 막관통 도메인, 및 4-1BB 엔도도메인 및 CD3제타 엔도도메인을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 함유한다. 항-BCMA CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열에는 확인된 잠재적 숨은 스플라이스 공여체 및 수용체 부위가 포함되지 않았다. 상기 바이러스 벡터는 또한, T2A 리보솜 스킵 서열에 의해 CAR 서열로부터 분리된, CAR 발현에 대한 대리 표지자 기능을 하는 절단형 수용체를 암호화하는 서열을 함유하였다.

[1018] **A. BCMA-표적화 CAR T 세포 조성물의 생성.**

[1019] 비증폭 공정 A에서, 백혈구 성분채집술 샘플들을 인간 공여체들로부터 채집하고, 세척하고, CD4+ 및 CD8+ T 세포 조성물에 대한 면역 친화도-기반 선택을 거쳤다. 선택 후, 별개의 CD4+ 및 CD8+ T 세포 조성물을 극저온 동결시킨 후, 해동시키고, 생존 CD4+ T 세포 대 생존 CD8+ T 세포(약 300×10^6 개 CD4+ 및 300×10^6 개 CD8+ 세포)를 대략 1:1의 비로 혼합한 후, 재조합 IL-2(100 IU/mL), 재조합 IL-7(600 IU/mL) 및 재조합 IL-15(100 IU/mL)를 함유하는 무혈청 완전 배지 중에서 항-CD3/항-CD28 Fab 접합된 올리고머성 스트렙타비딘 뮤테인 시약과 함께 18 내지 30시간 동안 인큐베이션함으로써 자극하였다. 자극 후, 세포를 항-BCMA CAR을 암호화하는 렌티바이러스 벡터로 회전 접종에 의해 형질도입시켰다. 회전 접종 후, 세포를 세척하고, 재조합 사이토카인의 첨가 없이 기본 무혈청 배지에 재현탁시키고, 인큐베이터에서 약 37.0° C에서 인큐베이션하였다. 이후, 자극의 개시 후 약 48시간 후에, D-비오틴을 첨가하고 세포와 함께 혼합하여 올리고머성 스트렙타비딘 시약으로부터 항-CD3 및 항-CD28 Fab 시약을 해리시켰다. 세포를 48시간 동안(자극 개시 후 약 4일까지) 더 인큐베이션한 후, 동결보호제로 제형화하였다.

[1020] 비증폭 공정 B에서, 백혈구 성분채집술 샘플들을 인간 공여체들로부터 채집하고, 세척하고, 냉동 보존하였다. 냉동 보존된 샘플들을 해동시킨 후, CD4+ 및 CD8+ 세포의 개별 조성물을 면역 친화도-기반 선택에 의해 각각의 샘플로부터 선택하였다. 선택한 CD4+ 및 CD8+ T 세포 조성물을 최대 900×10^6 개 총 생존 세포 CD4+ 및 CD8+ T 세포로 그리고 통상적으로 대략 1:1의 비로 혼합한 후, 재조합 IL-2(100 IU/mL), 재조합 IL-7(600 IU/mL) 및 재조합 IL-15(100 IU/mL)를 함유하는 무혈청 완전 배지 중에서 항-CD3/항-CD28 Fab 접합된 올리고머성 스트렙타비딘 뮤테인 시약과 함께 16 내지 24시간 동안 자극 인큐베이션하였다. 자극 후, 세포를 항-BCMA CAR을 암호화하는 렌티바이러스 벡터로 회전 접종에 의해 형질도입시켰다. 회전 접종 후, 세포를 세척하고, 재조합 사이토카인의 첨가 없이 기본 무혈청 배지에 재현탁시키고, 인큐베이터에서 약 37.0° C에서 인큐베이션하였다. 이후, 자극의 개시 후 약 48시간 후에, D-비오틴을 첨가하고 세포와 함께 혼합하여 올리고머성 스트렙타비딘 시약으로부터 항-CD3 및 항-CD28 Fab 시약을 해리시켰다. 세포를 48시간 동안(자극 개시 후 약 4일까지) 더 인큐베이션한 후, 동결보호제로 제형화하였다.

[1021] 증폭 공정에서, CD4+ 및 CD8+ 세포의 개별 조성물들을 인간 백혈구 성분채집술 샘플로부터 선택하고 극저온 동결하였다. 이어서 선택한 세포 조성물을 해동하고 생존 CD4+ T 세포 대 생존 CD8+ T 세포 1:1의 비로 혼합하였다. 혼합 조성물의 대략 300×10^6 개의 T 세포(150×10^6 CD4+ 및 150×10^6 CD8+ T 세포)를 18 내지 30시간 동안 재조합 IL-2, IL-7 및 IL-15를 함유한 무혈청 배지에서 비드 대 세포 비 1:1로 항-CD3 및 항-CD28 항체가 부착된 상자성 폴리스티렌-코팅된 비드의 존재 하에서 자극하였다. 인큐베이션 후에, 자극된 세포 조성물로부터 대략 100×10^6 개의 생존 세포를 재조합 IL-2, IL-7 및 IL-15를 함유한 무혈청 배지에서 농축하였다. 세포를 대략 1600g에서 60분 동안 회전 접종에 의해, 항-BCMA CAR을 암호화하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입시켰다. 회전 접종 후, 세포를 재조합 IL-2, IL-7 및 IL-15를 함유한 무혈청 배지에서 재현탁하고, 약 18 내지 30시간 동안 약 37 °C에서 인큐베이션하였다. 이어서 세포를 인큐베이션 및 형질도입 단계 중 사용된 바와 같은 IL-2, IL-7 및 IL-15 농도의 2배를 함유하는 무혈청 배지 약 500mL에 담아 생물 반응기(예를 들어, 요동 운동 생물반응기)로 전달하여 증폭을 위해 육성하였다. 설정된 생존 세포 밀도가 달성될 때, 관류가 개시되었으며, 여기서 배지는 연속 혼합으로 반연속 관류에 의해 대체되었다. 다음 날 세포를 생물반응기에서 약 3×10^6 개 세포/mL의 임계 세포 밀도가 달성될 때까지 육성하였으며, 이는 통상적으로 6-7일의 증폭을 수반하는 공정에서 발생하였다. 항-CD3 및 항-CD28 항체 접합 상자성 비드가 자기장에 노출됨으로써 세포 조성물에서 제거되었다. 이어서 세포를 채집하고, 제형화하고 및 동결 보호하였다.

[1022] **B. 조작된 T 세포 조성물의 순도.**

[1023] 도 1에 도시된 바와 같이, 비증폭 조작 공정들로부터 생산된 T 세포 조성물을 CD3, NK 세포 표지자, 및 BCMA를 포함하는 표면 표지자를 인식하는 항체로 염색하고, 유세포 분석으로 정량화하였다. 모의 형질도입된 T 세포 조

성물을 생성하고, 대조군으로서 사용하였다. 비증폭 공정을 사용하여 생성된 세포 조성물은 일반적으로 높은 백분율(>96%)의 CD3+ T 세포를 나타냈고, NK 세포 및 CD19+ 세포의 백분율은 낮았다.

[1024] **C. CD4/CD8 빈도 및 CD4/CD8 비.**

[1025] **도 2 및 도 3**에 도시된 바와 같이, 증폭 및 비증폭 조작 공정들로부터 생산된 T 세포 조성물을 CD3, CD4, 및 CD8를 포함하는 표면 표지자를 인식하는 항체로 염색하고, 유세포 분석으로 정량화하였다. 모의 형질도입된 T 세포 조성물을 생성하고, 대조군으로서 사용하였다. 증폭 공정은 개별 CD4 및 CD8 조성물을 생성하였기 때문에, CD4+ 또는 CD8+ T 세포 각각은 이 공정에 의해 생성된 각각의 조성물 중에 ~100%로 존재하였다.

[1026] **D. 세포 생존력.**

[1027] 비증폭 조작 공정들로부터 생산된 T 세포 조성물을, 세포 건강의 척도로서 아넥신 V 또는 활성화된 카스파제 3(aCas3)으로의 표면 염색 및 CD3을 포함하는 표면 표지자를 인식하는 항체로 표면 염색과 같이, 세포자멸사를 나타내는 인자의 발현에 대해 염색하였다. **도 4**는 모의 형질도입된 T 세포 조성물과 비교하여 비증폭 조작 공정들로부터 생산된 세포 조성물의 CD3+ 세포 중 aCas3+ 세포의 백분율을 도시한다.

[1028] **E. 벡터 카피수 및 CAR의 표면 발현.**

[1029] 본 실시예에 기재된 바와 같이 본질적으로 비증폭 및 증폭 조작 공정으로부터 생성된 T 세포 조성물을, 표준 벡터 카피수(VCN) 분석법 및 펄스 필드 겔 전기영동(PFGE)에 의한 고분자량 및 저분자량 DNA 종의 분리를 포함하는 통합 벡터 카피수(iVCN) 분석법을 사용하여 분석하였다. VCN 및 iVCN 분석법에 의해 측정된 CAR의 벡터 카피수는 또한 CAR의 표면 발현과 상관관계가 있었다. VCN 및 iVCN 분석법을 위한 예시적인 방법 및 조성물은 문헌 [PCT/US2019/046048]에 개시되며, 이는 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[1030] 구체적으로, 게놈 DNA를 세포로부터 준비하고, (1) 자동 PFGE (예를 들어, PippinHT (Sage Science, Beverly, MA) 디바이스)에 의해 분리가 수행되는, 15kb의 임계값 미만의 저분자량 비염색체 종으로부터 >15kb 더 높은 분자량 DNA 종의 분리에 대한 임계값을 사용하는 iVCN 방법(“iVCN”), 또는 (2) 게놈 DNA가 PFGE에 의해 먼저 분리되지 않는 표준 VCN 방법(“VCN”) 중 어느 하나에 의한 전이 유전자 서열 카피수의 평가를 진행하였다. 두 분석법에서, 전이 유전자 카피수를 전이 유전자에 고유한 서열에 특이적인 프라이머(예를 들어, 재조합 단백질의 조절 요소에 특이적인 프라이머)를 사용하는 ddPCR에 의해 측정하였고, 기준 유전자(예를 들어, 알부민(ALB) 유전자)에 특이적인 프라이머를 사용하여 측정되는 2배체 게놈으로 정규화하였다.

[1031] 결과는 VCN 분석법을 사용하여 평가된 전이 유전자 카피수는 iVCN에 의해 평가된 전이 유전자 카피수와 일반적으로 상관관계가 있다는 것을 보여주었다(**도 5a**). 하지만, 비증폭 공정을 사용해 제조된 세포의 경우, VCN에 의해 수득된 값이, 비증폭 공정을 사용하여 생성된 세포를 함유한 샘플에 존재할 수 있는 통합되지 않은 전이 유전자 서열을 검출하는 VCN 분석법과 일치하는, iVCN에 의해 수득된 값보다 더 높았다. 이와는 대조적으로, 증폭 공정을 사용하여 제조된 세포의 경우, VCN과 iVCN에 의해 수득된 값이 거의 동일하였다(VCN = iVCN 선 근처). 이 차이들은 증폭 공정과 비교하여 더 짧은 비증폭 공정에서 샘플 내 더 많은 양의 유리된 통합되지 않은 전이 유전자 서열 카피의 존재 때문일 가능성이 있다. 이 결과들은 고분자량 및 저분자량 DNA 모두를 검출할 수 있는 표준 VCN 분석법이, 특히 유리된 통합되지 않은 전이 유전자 서열 카피가 여전히 샘플 내에 존재할 수 있는, 전이 유전자 도입 후 초기에 세포를 평가하는 데 사용할 때, iVCN 분석법과 비교하여 한계가 있다는 관찰과 일치한다.

[1032] CAR의 표면 발현에 대한 iVCN 또는 VCN 분석법의 상관관계 정도를 평가하기 위해, 비증폭 또는 증폭 공정으로부터 얻은 세포 샘플을 CD3, CD45 및 CAR의 발현에 대해 유세포 분석에 의해 평가하여 생존 CD45+ 세포 중에 CD3+CAR+ 세포의 백분율을 측정하였다. **도 5b**에 도시된 바와 같이, VCN 분석법은 비증폭 공정에 의한 것보다 증폭 공정에 의해 조작된 샘플에 대한 CAR+ 세포의 백분율에 더 나은 상관관계를 보였으며, 이는 표면 CAR 발현에 기여하지 않은 통합되지 않은 CAR DNA 서열의 존재 때문일 가능성이 있다. **도 5c**에 도시된 바와 같이, iVCN은 비증폭 또는 증폭 공정에 의해 조작된 세포들 중에서 CAR의 발현에 대해 비슷한 상관관계를 보였다. 모든 샘플에 대해, CAR 발현과 세포 당 카피수의 상관관계는 VCN 분석법($R^2 = 0.5903$)에 의해 측정된 바와 같은 세포 당 카피수와 비교하여 iVCN 분석법($R^2 = 0.8952$)에 의한 것이 더 높았다.

[1033] **F. T 세포 조성물의 기억 프로파일.**

[1034] 증폭 및 비증폭 조작 공정들로부터 생산된 T 세포 조성물을 활성화된 카스파제 3(aCas3)에 대해 그리고 CD4,

CD8, CCR7, CD27 및 CD45RA를 포함하는 표면 표지자를 인식하는 항체로 염색하였다. 나이브/나이브-유사 T 세포 (CD45RA+CCR7+), 중심 기억(CD45RA-CCR7+), 효과기 기억(CD45RA-CCR7-; T_E+_{EM}) 및 효과기 기억 CD45RA+ 세포 (CCR7-CD45RA+; T_{EMRA})를 나타낸 T 세포의 백분율을 측정하였다. 도 6a에 도시된 바와 같이, 조작된 조성물은 중심 기억/나이브-유사 T 세포가 농축된다.

[1035] CCR7 및 CD27 염색 모두에 대해 양성인 aCas- T 세포 중에서 CD4+CAR+ 및 CD8+CAR+ T 세포의 백분율이 도 6b에 도시된다. 도시된 바와 같이, 조작된 조성물은 CCR7+CD27+ 세포에 대해 농축된다.

[1036] 이러한 결과들은 비증폭 공정으로부터 생성된 조작된 세포 조성물이 증폭 공정으로부터 생성된 세포 조성물보다 덜 분화된 나이브-유사 표현형을 갖는 세포를 더 많은 비율로 갖는다는 것을 뒷받침한다.

[1037] **실시예 2: 비증폭 공정을 사용하여 생성된 T 세포 조성물의 시험관 내 활성.**

[1038] 항-BCMA 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 T 세포를 함유하는 1차 T 세포의 조작된 T 세포 조성물들을 조작된 T 세포를 제조하기 위한 비증폭 및 증폭 공정을 사용하여 매칭된 공여체들로부터 생산하고, 세포 조성물들의 속성을 비교하였다.

[1039] 1명의 건강한 공여체(HD1) 또는 다발성 골수종이 있는 3명의 환자(MM1, MM2, 또는 MM3)로부터 백혈구 성분채집술 샘플들을 채집하고, 제조 실행들을 수행하여 실시예 1에서 공정 A에 실질적으로 기재된 바와 같은 비증폭 공정을 사용하여 항-BCMA CAR을 갖는 T 세포를 조작하였다. 조작된 T 세포 조성물을 실시예 1에 기재된 바와 같은 증폭 공정을 사용하여 공여체-매칭된 공정 실행으로부터 생산된 T 세포 조성물과 비교하였다. 상기 CAR은 scFv 결합 도메인, IgG-유래 스페이서, 막관통 도메인, 및 4-1BB 엔도도메인 및 CD3제타 엔도도메인을 포함하는 세포 내 신호전달 영역을 함유한다. 항-BCMA CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열에는 확인된 잠재적 숨은 스플라이스 공여체 및 수용체 부위가 포함되지 않았다. 상기 바이러스 벡터는 또한, T2A 리보솜 스킵 서열에 의해 CAR 서열로부터 분리된, CAR 발현에 대한 대리 표지자 기능을 하는 절단형 수용체를 암호화하는 서열을 함유하였다.

[1040] **1) 기억 프로파일.**

[1041] 비증폭 및 증폭 공정에 의해 매칭된 공여체들로부터 생성된 조작된 T 세포 조성물 유래 세포를 분석하였다. 구체적으로, 항-BCMA CAR T 세포 생성물을 CD4, CD8, CCR7, CD45RA를 포함한 표면 표지자에 대해, 및 CAR(대리 표지자+ 또는 항-이디오타입+)에 대해 유세포 분석에 의해 평가하였다. 세포를 CAR 발현에 대해 이중-양성인 살아있는 CD3+ 세포 상에서 게이팅하였다. 이어서, CD3+CAR+ 세포를 기억 아형 분류(memory subtyping) 전에 CD4+(도 7, 상부 패널) 또는 CD8+(도 7, 하부 패널) 세포로서 게이팅하였다. 비증폭 공정을 사용하여 생성된 세포 조성물은 증폭 공정을 사용하여 생성된 세포 조성물과 비교하여 나이브-유사 및 중심 기억 T 세포의 더 높은 비율 및 효과기 기억 아형의 더 낮은 비율을 나타냈다.

[1042] **2) 증식 능력.**

[1043] 비증폭 및 증폭 공정에 의해 매칭된 공여체들로부터 생성된 조작된 T 세포 조성물의 세포를 항-BCMA CAR에 대한 작용성 항-이디오타입 항체와 접합된 마이크로비드의 존재 하에 10일 동안 연속 인큐베이션하여 CAR-의존성 자극을 제공하는 것을 포함하는 장기간 자극 분석법으로 분석하였다. 이 분석법은 투여 시에 생체 내에서 일어날 수 있는 바와 같이 항원에 장기간 노출 시에 생존하는 세포의 적합성 및 능력을 모방한다. 장기간 CAR-의존성 자극 이후 증식 능력을 평가하였고, 총 살아있는 세포의 수를 2일마다 측정하였다(도 8a-8c). MM1 또는 MM3의 비형질도입된(모의) 인간 CD3+ T 세포를 음성 대조군으로서 포함시켰다. 항-BCMA 비증폭된 세포 생성물의 세포는 공여체-매칭된 증폭된 세포 생성물에서 조작된 세포와 비교하여 실질적으로 증진된 증식 능력(평균적으로 2 내지 7배)을 나타냈다. 이 결과들은 비증폭된 세포 생성물이 중심 기억 및 줄기세포 기억 T 세포와 유사한 특성을 유지하는 세포를 포함하여, 보다 높은 상대적 비율의 덜 분화된 T 세포를 함유하고, 따라서 CAR을 통한 신호 전달에 반응하여 추가의 분화 라운드를 겪는 능력을 갖는다는 관찰과 일치한다.

[1044] **3) 사이토카인 생산**

[1045] 장기간 자극 전에 비증폭 또는 증폭 공정으로부터 조작된 CAR-T 세포 조성물을 플레이트-결합된 항-ID 상에서 5 시간 동안 인큐베이션하였다. 세포내 IL-2, IFN γ 또는 TNF 사이토카인 생산을 유세포 분석에 의해 측정하였다. 단일 사이토카인을 발현하는 CAR+ 세포의 빈도를 CD4+CAR+ 또는 CD8+CAR+ 집단 내에서 측정하였다. 세포를 24시간 동안 MM.1S BCMA-양성 표적 세포와 함께 배양한 후 분비된 사이토카인 농도의 다중 면역분석 정량화에 의해

사이토카인 단백질 분비를 측정하였다.

[1046] 비증폭 및 증폭 공정 둘 다로부터 생산된 항-BCMA CAR-T 세포의 사이토카인 생산은 왕성하였고, CAR+에서는 관찰되었지만 CAR-음성 세포에서는 관찰되지 않았다(도 9a-9c, CAR-음성 데이터는 도시되지 않음). 비증폭 공정으로부터 생산된 세포는 더 다기능적인 경향이 있었고, 더 많은 비율의 세포가 IL-2, IFN γ , 및 TNF α 를 동시에 생산하였다. 도 9d에 도시된 바와 같이, IL-2, IFN γ , 및 TNF α 를 동시에 생산한 비증폭 공정 생성물 내 CAR+CD8+ 세포의 백분율은 증폭 공정 생성물 내 CAR+CD8+ 세포의 백분율보다 상당히 더 높다. 비증폭 공정 생성물 내 세포는 또한 증폭 공정 생성물 내 세포와 비교하여 상당히 더 많은 분비된 사이토카인 단백질을 생산하였다(도 9e). 종합적으로, 이 결과들은 비증폭 공정 항-BCMA CAR 생성물이 더 다기능적이고, CAR을 통한 신호전달에 응답하여 증폭 공정 항-BCMA CAR 생성물과 비교하여 세포 당 기준으로 더 많은 양의 사이토카인을 생성한다는 것을 나타낸다.

[1047] 4) 세포 용해 활성.

[1048] 장기간 자극 전에 비증폭 또는 증폭 공정 유래 조작된 CAR-T 세포 조성물을 NuLight Red(NLR)를 발현하는 RPMI-8226/NLR 표적 세포와 공배양하여 현미경에 의한 추적을 가능하게 하였고, 연속적인 살아 있는 세포 영상화를 사용하여 정량화함으로써 세포독성을 측정하였다. 조작된 공여체-매칭된 CAR-T 세포 조성물과 표적 세포를 1:1과 0.5:1의 효과기 대 표적 세포(E:T) 비로 공배양하였다. 적색 형광 신호(Essen Bioscience의 IncuCyte® Live Cell Analysis System 사용)에 의해 결정된 바와 같이 약 96시간 동안의 기간에 걸쳐 생존 표적 세포의 손실을 측정하여 세포 용해 활성을 평가하였다. 데이터를 개별 공여체/공정별 또는 제조 공정별 비교를 위해 곡선 하 면적(AUC)으로 변환하였다. 종합적으로, 비증폭 공정을 사용하여 생성된 조작된 CAR-T 세포 조성물은 증폭 공정을 사용하여 생성된 T 세포 조성물과 비교하여 세포 당 기준으로 유사한 세포 용해 활성을 나타냈다(도 10a-10b).

[1049] 실시예 3: 비증폭 공정을 사용하여 생성된 T 세포 조성물의 생체 내 항-종양 활성.

[1050] 비증폭 및 증폭 매칭된-공여체 조작 공정으로부터 생성된 항-BCMA CAR-T 세포 조성물을 OPM-2 마우스 이중 이식 골수종 종양 모델에서 평가하였다. 면역 손상된 NOD.Cg-Prkdc^{scid} IL-2rg^{tm1Wjl}/SzJ 마우스에 2.0×10^5 OPM-2 반딧불이 루시페라아제-녹색 형광 단백질(FfLuc-GFP) 골수종 세포를 정맥내 주사하고, 13일 후, 종양 부담의 균형을 맞추기 위해 마우스를 군들로 무작위 배정하였다. 다음 날, 마우스에 마우스 당 1.0×10^6 (고 용량) 또는 0.25×10^6 개 세포(저 용량)로 공여체-매칭된 항-BCMA CAR 인간 CD3+ 생존 T 세포를 정맥내 주입하였다(군 당 n = 8마리 마우스). 대조군 마우스는 치료하지 않았다(종양 단독, 점선; n = 10마리 마우스). OPM-2 FfLuc-양성 BLI를 이미지화하여 파종성 종양 성장을 평가하였다. 모든 군(종양 부담)에 대해 BLI 방사 휘도(p/s; y축)의 변화가 도시되고(도 11a), 1일째부터 53일째까지의 종양 성장이 각 군의 AUC에 대해 계산된 전-후 점들로 도시된다(도 11b). 만-휘트니 U 시험(*p < 0.05)을 이용하여 차이를 비교하였다.

[1051] 고 용량 비증폭 공정 생성물로 치료된 마우스는 적어도 53일 동안 유지된 기준선 미만의 완전한 종양 퇴행을 보였지만; 공여체-매칭된 증폭 공정 생성물로 치료된 마우스는 기준선 아래 종양 성장의 초기 억제를 보였으나, 종양 부담은 치료 후 대략 20일까지 기준선 위로 증가하였다(도 11a, 좌측 패널).

[1052] 저 용량의 증폭 공정 생성물로 치료된 마우스는 치료되지 않은 대조군 마우스(종양 단독)와 비교하여 종양 부담이 보통의 일시적인 감소를 보였는데 이는 증폭 공정 생성물이 저 용량에서 활성임을 나타낸다. 대조적으로, 기준선 아래의 종양 퇴행은 HD1, MM2, 및 MM3 공여체 유래 공여체-매칭된 비증폭 공정 생성물의 저 용량으로 치료된 OPM-2 이중 이식 마우스에서 일어났다(도 11b, 우측 패널).

[1053] CAR T 세포 치료 후 4일 및 17일째에 마우스의 절반으로부터 그리고 10일 및 24일째에 마우스의 절반으로부터 혈액을 채집하였다. 순환 CAR T 세포를 유세포 분석에 의해 정량화하여 비증폭 공정 생성물의 증폭 잠재력을 평가하였다. 구체적으로, 혈액 세포를 유세포 분석에 의해 분석하여 CAR-특이적 인간 CD3+ T 세포를 식별하고, 개별 마우스에 대한 혈액의 마이크로리터 당 세포 수를 계산하였다. 증폭 공정 생성물로 치료된 군 내 순환 CAR T 세포의 수는 비증폭 공정 생성물과 비교하여 저 용량과 고 용량 군 모두에서 치료 후 4일째에 더 높았다(도 12a-12b). 그런, 4일째를 넘으면, 비증폭 공정 생성물 치료된 군들은 증폭 공정 생성물 치료된 군들과 비교하여, CAR T 세포의 더 많은 생체 내 증폭을 보였는데, 평균 대략 10배 더 높았다(도 12b, 비증폭, NE; 증폭, E). 종합하면, 이들 생체 내 데이터는 인간에서 향상된 항-종양 활성의 지표일 수 있는 비증폭 공정 조성물의 CAR-T 세포의 더 큰 증식 능력 및 효능과 일치한다.

- [1054] **실시예 4: 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종을 가진 대상체에게 항-BCMA CAR-발현 세포의 투여.**
- [1055] B 세포 성숙 항원(B-cell maturation antigen, BCMA)에 특이적인 CAR을 발현하는 자가 T 세포를 함유한 키메라 항원 수용체(chimeric antigen-receptor, CAR) 발현 T 세포 조성물을 재발성 및/또는 불응성 다발성 골수종(MM)을 가진 인간 대상체에게 투여하였다.
- [1056] BCMA에 특이적인 예시적인 CAR을 발현하도록 조작된 자가 T 세포를 함유한 조성물을 3회 이상의 선행 항골수종 치료를 받은 재발성 또는 불응성(R/R) 다발성 골수종(MM)을 가진 성인 인간 대상체에게 투여하였다.
- [1057] 투여된 항-BCMA CAR-발현 치료용 T 세포 조성물은 임상 반응 및 반응의 내구성에 영향을 줄 수 있는 덜 분화된 높은 비율의 세포 유형을 함유하는 표현형 프로파일을 갖는 CAR T 세포 생성물을 생성하도록 설계된 공정에 의해 생성되었다. 상기 공정은 치료될 개별 대상체 유래의 이전에 냉동 보존된 백혈구 성분채집술 샘플의 CD4⁺ 및 CD8⁺ 세포의 면역 친화도-기반(예를 들어, 면역 자기성 선택) 농축을 포함하였다. 단리된 CD4⁺ 및 CD8⁺ 세포를 혼합하고 항-CD3/항-CD28 Fab 접합된 올리고머성 스트랩타비딘 뮤테인 시약을 사용하여 자극을 거친 후, 자극된 조성물을 항-BCMA CAR을 암호화하는 바이러스 벡터(예를 들어, 렌티바이러스 벡터)로 형질도입하였다. 상기 CAR은 scFv 결합 도메인, IgG-유래 스페이서, 막관통 도메인, 및 4-1BB 엔도도메인 및 CD3제타 엔도도메인을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 함유하였다. 항-BCMA CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열에는 확인된 잠재적 숨은 스플라이스 공여체 및 수용체 부위가 포함되지 않았다.
- [1058] 상기 공정은 형질도입된 세포의 증폭을 위한 후속 단계를 수반하지 않았고, 일반적으로 형질도입된 세포의 증폭을 수반하는 공정보다 더 짧았다. 세포를 자극 개시 후 약 4일에 수확한 후, 동결보존제로 제형화하였다. 상기 공정은 출발 샘플과 비교하여 그리고 형질도입된 세포를 증폭을 목표로 한 육성 단계를 수반하는 제조 공정을 사용하여 생성된 세포 조성물과 비교하여 중심 기억 표현형에 대해 농축된 세포 조성물을 생성하였다.
- [1059] 대상체는 CAR-T 주입 전에 3일 동안 플루다라빈(flu, 30mg/m²) IV 및 시클로포스파미드(Cy, 300mg/m²) IV로 림프구 고갈 화학 요법(LDC)을 받았다. LDC는 주입 전 -5, -4, 및 -3일차에 투여하였다.
- [1060] 냉동 보존된 세포 조성물을 정맥내 투여 전에 침대 옆에서 해동하였고, 주입일을 1일차로 지정하였다(LDC 완료 후 2 내지 9일). 1일째에, 대상체에게 20×10^6 개 CAR+ T 세포 또는 40×10^6 개 총 CAR+ T 세포의 CAR-발현 T 세포의 용량을 투여하였다. 본 연구는 다음 추가 용량 수준: 60×10^6 개 총 CAR+ T 세포, 또는 80×10^6 개 총 CAR+ T 세포 중 하나로부터 대상체에게 투여하는 것을 고려한다. 각각의 용량은 CD3+CAR+ T 세포($\geq 80\%$ CD3+ 세포; $\geq 10\%$ CD3+CAR+ 세포)를 함유하였다.
- [1061] 효능 평가는 적용가능한 실험실 평가, EMP 평가(임상 검사 또는 PET, CT, 또는 MRI), 골격 조사, 및 골수 생검 및 흡인물을 포함하였다. “국제 골수종 워킹 그룹(International Myeloma Working Group, IMWG) 균일한 반응 기준”을 사용하여 질병 반응을 평가하였다(Kumar 등 (2016) Lancet Oncol 17(8):e328-346).
- [1062] 본 발명은 본 발명의 다양한 측면을 설명하기 위해, 예를 들어 제공되는 특정 개시된 구현으로 범위를 제한하려는 의도가 있는 것은 아니다. 기술된 조성물 및 방법에 대한 다양한 변형은 본원의 기재 및 가르침에서 명백해질 것이다. 상기 변형은 본 개시 내용의 진정한 범위와 정신에서 벗어나지 않고 실시될 수 있으며, 본 개시 내용의 범위에 속하도록 의도된다.

[1063] 서열

서열 번호	서열	설명
1	GGGSGGGSGGGSGGGGS	(4GS) ₃ 링커 (aa)
2	GGGS	3GS 링커 (aa)
3	gctgagagtaagttttccaggtccgccgacgtccagcct	4-1BB/CD3 제타 예측 스플라이스 수용체 부위
4	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	4-1BB-유래 세포내 공- 신호전달 서열 (aa)
5	aagcgggggagaaagaactgtgtatatttcaaacagcccttatgagacctgtc agactaccagaggaggaagacggatgcagctgtaggtttccgaggaagaggaagg aggctgtgagctg	4-1BB-유래 세포내 공- 신호전달 서열 (nt)
6	aagcgggggcagaaagaactgtgtctacatcttcaagcagccctcatgcggccctg cagaccacacaagagggaagatggctgtcctgcagattccccgaggaagaagaag gcggctgcgagctg	4-1BB-유래 세포내 공- 신호전달 서열 (nt)
7	GGGGS	4GS 링커 (aa)
8	gaatctaagtacggaccgcttgcctcctgtcccgctcctctgttgccggaccttc gtgttctgtttctcctcaagcctaaggacacctgatgatcagcaggacctgaagt gacctgcgtggtggtggtgtgtcccaagaggatcccgaggtgcagttcaactggt tgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagttc cagagcacctacagagtgtgtcctgtgtgacagtgtgcaccaggattggtgaac ggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggcctgcctagcagcatcgaga aaaccatctcaaggccaaggccagccaagagagccccaggtttacactgcctc caagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctgtgaaggc ttctaccctccgatcgtccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaac tacaagaccacacctctgtgtgacagcgacggcagtttctctgtatagtagact caccgtggataaatcaagatggcaagagggaacgtgttcagctgcagcgtgatgc acgaggccctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaag	대안적 CO/SSE 스페이서 (nt)

[1064]

9	gaggtgcagctggtgagtcgagcgaggagcctggtgaagccaggaggtcctcg aggctgtcttgcgcagccagcggttcacctttagcgactactatgtctggtacg acaggcacctggcaaggcgctgagtggtgagctacatcagctccttggtccac aatctactatgccgactctgtgaaggccggtttaccatcagcagagataacgccaag aattccctgtatctgcagatgaacagcctgagggccgaggacacagccgtgtactatt gcgccaaggtggacggcgattacaccgaggattattgggcccagggcacactggt gaccgtgagctcggcgcgcggtctctgagggaggaggcagcggcgaggag gtcccagctgtccctgacacagccagcagcgtgtccggtctcccggacagtccat cacaatctctgtaccggctctagctccgacgtgggcaagtacaacctggtgtctggt atcagcagccccctggcaaggccccctaaagctgatcatctacgatgtgaacaagggc catctggcgtgagcaatcgttcagcggctccaagctggaataccgccacactgac catcagcggcctgcaggcgacgatgaggcagattactattgttctagctacggcg cagcagatctacgtgttcggcacaggcaccaaggtgacctgtggaatctaagta cggaccgccttgtctcctgttcccgctcctctgttgcggacctccgtgtctgtttc ctcaaagcctaaggacaccctgatgatcagcaggacccctgaagtacgtgctggtg tggtggtatgtgtcccaaggatcccgaggtgcagttcaactggtatgtggacggc gtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaaacagttccagagcaccta cagagtgtgtcgtgctgacagtgtgcaccaggattggtgaacggcaagagt acaagtgaagggtccaacaaggcgctgctagcagcatcgagaaaaccatctcca aggccaaggggccagccaagagagccccaggtttacacactgcctccaagccaagag gaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgctgtgtaagggtcttaccctccg atatcgcgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccaca cctcctgtgctggacagcgacggcagtttctcctgtatagtagactaccgtggataa atcaagatggcaagagggaacgtgttcagctgcagcgtgatgcagaggccctgc acaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaagatgttctgggtgct cgtggtcgttggcggagtgctggcctgttacagcctgtggttaccgtggccttcatca tcttttgggtcaagcggggcagaagaagctgctctacatctcaagcagccctcatg cggcccgtgcagaccacacaagagggaagatggctgctcctgcagattccccgaggga agaagaaggcggtcgcagctgagagtgaagttcagcagatccgccgacgtcca gcctatcagcaggggccaaaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagaagag aagagtacgacgtgctgataagcggagaggcagagatcctgaaatgggaggca agcccagacggaagaatcctcaagaggcgctgtataatgagctgcagaagacaa gatggccgaggcctacagcgagatcggaatgaaggcgagcgagaagaggca agggacacgtggtactgtaccaggcctgagcaccgccaccaaggatacctatgac gcactgcacatgcaggccctgccacctaga	항-BCMA CAR

[1065]

10	gaggtgcagctggtgcagagcggaggaggcctggtgcagcctggcaggtccctgc gctgtcttgaccgccagcggttcacatttggcgactatgccatgtcctggtcaag caggcaccaggaaggcctgagtggtgggtttatccgcttaaggcctacgg cggcaccacagagtatgcccgagcgtgaaggccggttcacatcagccgggac gacttaagagcatgcctacctgcagatgaactctgaagaccgaggacacagcc gtgtactatttgcgagcatggagcgcccaaccgattatttgggcccagggcacctg gtgacagtgcagctccggcgccggcgtctgaggaggaggaaaggaggagg aggatccgacatccagatgacacagtccttctgtcgcctctgtggcgata gggtgacctgacatgtcgcgcctccaggcatcttaactacctgacctggtatca gcagaagcccggaatgcccctcgctgctgatctacagcgctccacctgcagag cggagtgcctccgggtcagaggaaaccggctatggcacagagtttctctgacctc gacagcctgcagccagaggatttcgccacatactattgtcagcagttaccagcc ggcagacatttggccccggcacaagactggatatcaaggagttaatacggaccg cctgtcctctgttcccgctcctcgttgcggacctccgtgttctgttctccaaag cctaaggacacctgatgatcagcaggacctgaagtgcgtggtggtggtg gtgtccaaggagatcccgaggtgcagttcaactggtatgtggacggcggtgaagt gcacaacgccaagaccaagcctagagaggaaagtcagagcacctacagagt gtgtcgtgctgacagtgcgtcaccaggattggtgaacggcaagagataagtg caagggtgtcaacaaggcctcctagcagcatcgagaaaacctctcaaggccaa gggccaagccaagagagccccaggtttacacactgcctcaagccaagaggaaatga ccaagaatcaggtgtcctgacatgcctggtcaagggtcttaccctccgatatcgcc gtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctctgt gctggacagcgacggcagtttcttctgtatagtagactaccgtgataaatcaaga tggaagaggggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcagaggccctgcacaacca ctacaccagaaaagcctgagcctgtcttgggcaagatgttctgggtgctggtg gttggcggagtgctggcctgttacagcctggttaccgtggccttcacatcttttg gtcaagcggggcagaagaagctgctctacatcttcaagcagccctcatcgccc gtgcagaccacacaagagggaagatggctcctgcagattccccgaggagaaga aggcggctgcgagctgagagtgaagttcagcagatccgccgacgctccagcctatc agcaggggccaaaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagaagagaagagt acgacgtgctggataagcggagaggcagagatcctgaaatgggcccgaagccca gacggaagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgcagaagacaagatggcc gaggcctacagcgagatcggaatgaaggggcagcgagcagaagggaagggaca cgatggactgtaccagggcctgagcaccgccaccaaggatacctatgacgcactgca catgcaggccctgccacctaga	항-BCMA CAR

[1066]

11	gaggtgcagctggtggagtcggagggagcctggtgaagccaggaggtctctga ggctgagctgcgcagcctccggcttcacctttctgactactatagctggatcagg caggcaccaggcaaggcctggagtggtgtcttaccatcagctccttggcagcaca atctactatgccgactccgtgaaggcaggttcacatctctcgataaacccaaga atagcctgtatctgcagatgaactcctgcggccgaggatacagcctgtactattg cgccaagggtggacggcccccttcttgatactggggcagggcacaatggtgac cgtgagctccggagggaggtatccggcgaggaggtctggtggtggtggtggtg tagctatgtgtgacccagccaccatccgtgtgtgtggtggtggtggtggtggtg gatcacctgtggagcaacaatatcggcagcaagtcctgtgactgtgtaccagcagaa gcctggccaggcccaatgctggtggtgtatgacgatgacgatggtggtggtggtg tcctgagagattttctggcagcaactccggcaataccgccactgacctctctgga gtggaggcaggcgacgaggcagattactctgtcacctgtgggaccggagcagag atcactacgtgttcggcacaggcaccaagctgacctgtggaatctaagtacggac cgcttctctctctgtcccgctcctctgtggtggtggtggtggtggtggtggtg gatgtgtcccaaggaggtacccgaggtgcagttcaactggtatgtggacggcgtgga agtgcacaacccaagaccaagcctagagaggaacagttccagagcacctacagag tggtgtccgtgtgacagtgctgcaccaggattggtgaacggcgaagagtacaagt gcaaggtgtccaacaaggcctgctagcagcatcgagaaaaccatctccaaggcc aaggggcagccaagagagccccaggtttacactgcctccaagccaagaggaat gaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctggtcaagggttctacccctccgatc gccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctc tgtctggacagcgagcagtttctctgtatagtagactaccgtggataaatcaa gatggcaagagggaacgtgttcagctgcagcgtgatgcagagccctgcacaac cactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaagatgttctgggtgctctgg tcgttggcggagtgctggtgttacagcctgctggttacctggtggttcatctctt gggtcaagcgggagagaagaagctgctctacatctcaagcagccctcatgctggc ccgtgcagaccacacaagaggaagatggctgctcctgcagattccccgaggaagaa gaaggcggtgctgagctgagagtgaaagttcagcagatccgccgagctccagccta tcagcagggccaaaaccagctgtacaacgagctgaactggggagagaagagag tacgacgtgctggataagcggagagggcagagatcctgaaatgggagcgaagccca gacggaagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgcagaagacaagatggcc gaggcctacagcgagatcggaatgaaggcgagcgcagaagaggcaagggaca cgatggactgtaccaggcctgagcaccgccaccaaggatactatgacgcactgca catgcaggccctgcacctaga	항-BCMA CAR

[1067]

12	agctatgagctgacacagcctccaagcgctctggcacacctggacagcgagtgaca atgagctgtagcggcaccagcagcaacatcgccagccacagcgtgaactggtatca gcagctgctggcagagccctaaactgctgatctacaccaacaaccagcgccctag cggcgtgcccgatagattttctggcagcaagagcggcacaagcgccagcctggtat ttctggactgcagagcgaggacgagccgactattattgtgccctgggacggctc tctgaacggcctgtttttggcgaggcaccaagctgacagtgctgggatctagaggt ggcggaggtatctggcggcgaggaagcgaggcgcggtatcttgaatggct gaagtgcagctgtgtcagctctggcggcgaagtgaagaagcctggcgagagcctga agatcagctgcaaagcgagcgctacagcttcaccagctactggatcggtgggtcc gacagatgcctggcaaaggccttgatggatggcatcatcaccggcgacagc gacaccagatacagccctagctttcagggccacgtgacctacgcgcgacaagtct atcagcaccgctacctgcagtggtccagcctgaaggcctctgacaccgcatgtact actgcgccagatactctggcagcttcgacaattggggccagggcacactggtcaccg tgtccagcgagctaaatacggaccgctgtctctgttccgctctctctgttgcg gaccttcgtgttctgttctccaagcctaaggacacctgatgacagcaggacc cctgaagtgcctgcgtggtggtggtgtgtcccaaggatcccagggtgcagttc aactggtatgtggacggcgtggaagtgcacaacccaagaccaagcctagagagg aacagttccagagcacctacagagtggtgtcgtgtgacagtgctgcaccaggatt ggctgaacggcaaagagtacaagtgcagggttccaacaaggcctgcctagcag catcgagaaaaccatctccaaggccaaggccagccaagagagccccagggtttaca cactgcctccaagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtcctgacatgcctgg tcaagggcttctacccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctg agaacaactacaagaccacacctctgtgtgacagcgacggcagtttctctgtat agtagactcaccgtggataaatcaagatggcaagggcaacgtgttcagctgcag cgtgatgcagagggcctgcacacactacaccagaaaagcctgagcctgtctct gggcaagatgttctgggtgctcgtggtcgttgccggagtgtgctgttacagcct gctggttaccgtggccttcacatcttttgggtcaagcggggcagaaagaagctgtc tacatcttcaagcagccctcatgcggccgtgcagaccacacaagaggaagatggc tgtcctgcagattccccgaggaagaagaaggcggtgcgagctgagagtgaagtt cagcagatccgccagcctccagcctatcagcagggccaaaaccagctgtacaacg agctgaacctggggagaagagaagagtacgacgtgctggataagcggagaggca gagatcctgaaatggcggaagcccagacggaagaatcctcaagaggcctgtat aatgagctgcagaaagacaagatggccgaggcctacagcgagatcggaatgaagg cgcagcgcagaagaggcaagggacacgatggactgtaccaggcctgagcaccg ccaccaaggatacctatgacgcactgcacatgcaggccctgccacctaga	항-BCMA CAR

[1068]

13	cagtctgccctgacacagcctgccagcgttagtgctagtccccggacagtctatcgccat cagctgtaccggcaccagctctgacgttgctggtatcagcagcacctggcaaggc ccctaagctgatgatctacgaggacagcaagaggcccagcggcgtgtccaatagatt cagcggcagcaagagcggcaacaccgccagcctgacaattagcggactgcaggcc gaggacgagggccgattactactgacagcagcaacaccgggtccagcacactggtttt ggcggaggcaccagctgacagtgtggtatctagagggtggcggaggatctggc ggcggaggaaagcggaggcggcggatctcttgaatggctgaagtgcagctggtgc agctgtggcggcagatgaagaaacctggcgcctctgaagctgagctgcaaggcc agcggctacacctcatcgactactacgtgtactggatgcggcaggccctggacag ggactcgaatctatgggctggatcaacccaatagcggcggcaccattacggccag aaattccagggcagagtgaacctgaccagagacaccagcatcagcaccgctacatg gaactgagccgctgagatccgacgacaccgccatgtactactgcgccagatctcag cgcgacggctacatggattattggggccagggaacctggtaccgtgtccagcga gtctaaatacggaccgctgtctctctgtcccgctcctcgtgttccggaccttcgtg ttctgttttctcctcaagcctaaggacacctgatgatcagcaggacctgaagtgc ctgcgtggtggtggtgtgtcccaaggatccgagggtgcagttcaactggtatgt ggacggcgtggaagtgcacaagccaagaccaagcctagagaggaaagttccag agcacctacagagtgtgtccgtgtgacagtgtgcaccaggattggctgaacggc aaagagtacaagtgaaggtgtccaacaggcctgcctagcagcatcgagaaaac catctccaaggccaaggggcagccaagagagccccagggtttacactgcctccaag ccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctgtcaagggtctta ccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactaca agaccacacctctgtgtgacagcgagcgcagtttctctgtatagtagactacc gtggataaatcaagatggcaagagggaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacga ggccctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctggcgaagatgtt tgggtgtctgtgtgtgtggcggagtgtgtgctgttacagcctgtgtgtaccgtgg ccttcacatcttttgggtcaagcggggcagaagaagctgtctacatcttcaagcag ccctcatgcggcccggtgcagaccacacaagagggaagatggctcctgcagattc cccaggaagaagaaggcggctgcgagctgagagtgaagttcagcagatccgcc gacgctccagcctatcagcaggggccaaaaccagctgtacaacgagctgaacctggg gagaagagaagagtacgacgtgtgataagcggagaggcagagatcctgaaat ggcggcgaagcccagacggaagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgcag aaagacaagatggccgaggcctacagcgagatcggaatgaagggcgagcgcaga agaggcaagggaacagatggactgtaccaggcctgagcaccgccaccaaggata cctatgacgcactgcacatgcaggccctgccacctaga	항-BCMA CAR

[1069]

14	cagctcgcctgacacagcctgccagcgttagtgctagtcgccgacagtctatcgccat cagctgtaccggcaccagctctgacgttggtggtatcagcagcaccctggcaaggc ccctaagctgatgatctacgaggacagcaagagggccagcggtgtccaatagatt cagcggcagcaagagcggaacacccagcctgacaattagcggactgcaggcc gaggacgagggcattactactgacagcaacacccgggtccagcacactggtttt ggcggaggcaccaagctgacagtgtggtggtatcagagtggtgggaggtctggtc ggcggagggaagcgaggcggtggtctcttgaatggctgaagtgcagctggtgc agtctggcgccgagatgaagaacctggcgctctctgaagtgcagctgcaaggcc agcggctacaccttcacgactactacgtgtactggtggtgagcgagccctggacag ggactcgaatctatgggtggtatcaacccaatagcggtgacccaattacccag aaattccagggcagagtaccatgaccagagacaccagcatcagcaccctacatg gaactgagcggctgagatccgacgacaccgcatgtactactgcgcagatctcag cgcgacggctacatggattattggggccagggaacccctggtcaccgtgtccagcga gtctaatacggaccgcctgtctcctgttccgctctctgttgcggaccttcgtg ttctgttttctccaaagcctaaggacacctgtgatcagcaggaccctgaagtgc ctgcgtggtggtggtggtgtgtccaaggatcccgaggtgcagttcaactggtatgt ggacggcgtggaagtgcacaacccaagaccaagcctagaggaacagttccag agcacctacagagtgtgtcgtgctgacagtgtgcaccaggattggtgtaacggc aaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggcctgctagcagcatcgagaaaac catctccaaggccaagggccagccaagagagcccagggtttacacactgcctccaag ccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtcctgacatgcctggtcaagggttcta cccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaaactaca agaccacacctctgtgtgacagcgacggcagtttctctgtatagtagactacc gtggataaatcaagatggcaagagggaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacga ggcctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctgtggcaagatgttc tgggtgctcgtggtcgttggcgagtgctggtgttacagcctgctgttaccgtgg ccttcacatcttttgggtcaggagtaagaggagcaggctcctgcacagtactacat gaacatgactccccgcgccccgggccaccgcaagcattaccagccctatgcccc accacgcgacttcgcagcctatcgtccagagtgaagttcagcagatccgacgct ccagcctatcagcagggccaaaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagaag agaagagtacgacgtgtgtgataagcgagaggcagagatcctgaaatgggcgg caagcccagacggaagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgcagaaagaca agatggccgagggcctacagcgagatcggaatgaaggcgagcgcagaagaggc aaggggacacgatggactgtaccaggcctgagcaccgccaccaaggatacctatga cgactgcacatgcaggccctgccacctaga	항-BCMA CAR

[1070]

15	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKVDGDYTEDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSQALT QPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLWSWYQQPPGKAPKLIYDV NKRPSGVSNRFSGSKSGNTATLTISGLQGDDEADYYCSSYGGSRSYV FGTGTQVTVLESKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLS LGKMFVWLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP R	항-BCMA CAR
16	EVQLVQSGGGLVQPGSRSLRSLCTASGFTFGDYAMSWFKQAPGKGLE WVGFIKSKAYGGTTEYAAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTA VYYCAAWSAPTIDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQT QSPAFLSASVGDRTVTCRASQGISNYLAWYQQKPGNAPRLIYSAS TLQSGVPSRFRGTGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYCCQSYTSRQTFGP GTRLDIKESKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLG KMFVWLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	항-BCMA CAR

17	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKVDGPPSFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSVYLT QPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPMLVVD DDDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRD HYVFGTGTQVTVLESKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT PPVLDSDGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKS LSLSLGKMFVWLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQ FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR	항-BCMA CAR
18	SYELTQPPSASGTPGQRTVMSCSGTSSNIGSHSVNWWYQLPGTAPK LLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEADYYCAAWD GSLNGLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIYP GDSDFRYSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARYS GSFDNWGQGLTVTVSSSKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF QSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NYKTTPPVLDSDGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNH YTQKSLSLSLGKMFVWLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY QQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR	항-BCMA CAR

19	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIE DSKRPSGVSNRFGSGSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSNTRSTLV FGGGTKLTVLGSRRGGGGGGGGGGGSGGGSLEMAEVQLVQSGAEMK KPGASLKLSCKASGYTFIDYVVYWMRQAPGQGLSMGWPNPNSGG TNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAMYYCARSQRD GYMDYWGQGLTVTVSSSESKYGPPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHN HYTQKLSLSLGKMFVWLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY QQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQUALPPR	항-BCMA CAR
20	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIE DSKRPSGVSNRFGSGSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSNTRSTLV FGGGTKLTVLGSRRGGGGGGGGGGGSGGGSLEMAEVQLVQSGAEMK KPGASLKLSCKASGYTFIDYVVYWMRQAPGQGLSMGWPNPNSGG TNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAMYYCARSQRD GYMDYWGQGLTVTVSSSESKYGPPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHN HYTQKLSLSLGKMFVWLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAP AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQUALPPR	항-BCMA CAR
21	YFDSL	BCMA 에피토프
22	TGSSSDVGKYNLVS	BCMA-23 CDR-L1 (aa)
23	DVNRPS	BCMA-23 CDR-L2 (aa)

24	SSYGGSRSYV	BCMA-23 CDR-L3 (aa)
25	ggctgattattattgtagctcatatggaggtagtagtctt	BCMA-23 예측 스플라이스 수용체 부위
26	ctactacatgagctggatccgccaggtccaggaaggggc	BCMA-23 예측 스플라이스 수용체 부위
27	ctactatatgtctggatcagacaggcacctggcaagggcc	BCMA-23 예측 스플라이스 수용체 부위 (O/SSE)
28	ggcagattactattgttctagctacggcggcagcagatcct	BCMA-23 예측 스플라이스 수용체 부위 (O/SSE)
29	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKV/DGDDYEDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSQSALT QPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLVSWYQQPPGKAPKLIYDV NKRPSGVSNRFGSGSGNTATLTISGLQGDDEADYYCSSYGGGSRSYV FGTGKVTVL	BCMA-23 scFv (aa)

30	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGG AGGGTCCCTGAGACTCTCTGTGCAAGCCTCTGGATTACCTTCAG TGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCATATACT ACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAAC GCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAAGTAGACGGAGACTACA CAGAGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGAT CGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTG GACAGTCGATCACTATCTCCTGCACTGGAAGCAGCAGTGATGTTG GCAAATATAATCTTGTCTCCTGGTACCAACAGCCCCAGGCAAAG CCCCCAAGCTCATAATTTATGACGTCAATAAGCGGCCCTCAGGGG TTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCACCCT GACAATCTCTGGGTCCAGGGTGACGACGAGGCTGATTATTATG TAGCTCATATGGAGGTAGTAGGTCTTATGTCTTCGGAAGTGGGAC CAAGGTGACCGTCCTA	BCMA-23 scFv (nt)
31	gaggtgcagctggtgagtcgagcgaggagcctggtgaagccaggaggtccctg aggctgtcttgcgcagccagcggttcaccttagcgactactatatgtcctggatcag acaggcacctggcaagggcctgagtggtgagctacatcagctcctctggtccac aatctactatgccgactctgtgaagggccggtttaccatcagcagagataacgccaag aattcctgtatctgcagatgaacagcctgagggccgaggacacagcgtgtactatt gcgccaaggtggacggcgattacaccgaggattattgggcccagggcacactggt gaccgtgagctcggcgggcggtctctgaggaggaggcagcgcgaggag gctcccagctctgacctgacacagccagccagcgtgtccggctctcccgacagtccat cacaatctctgtacggctctagctccgacgtgggcaagtacaacctggtgtcctggt atcagcagccccctggcaagggccctaagctgatcatctacgatgtgaacaaggagc catctggcgtgagcaatcgcttcagcggctccaagctggcaataccgccacactgac catcagcggtctgcagggcgacgatgaggcagattactattgttctagctacggcg cagcagatcctacgtgtcggcacaggcaccaaggtgaccgtgctg	BCMA-23 scFv (nt)
32	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKVDGQDYTEDYWGQGLTVTVSS	BCMA-23 V _H 사슬 (aa)

[1075]

33	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLVSQPPGKAPK LIYDVNKRPSGVSNRFSGSKSGNTATLTISGLQGDDADYYC SSYGG SRSYVFGTGKVTVL	BCMA-23 V _L 사슬 (aa)
34	DYYMS	BCMA-23, -26 CDR-H1 (aa) Kabat 넘버링
35	YISSSGSTIYYADSVKG	BCMA-23, -26 CDR-H2 (aa) Kabat 넘버링
36	VDGDYTEDY	BCMA-23 CDR- H3 (aa)
37	DYAMS	BCMA-25 CDR- H1 (aa) Kabat 넘버링
38	FIRSKAYGGTEYAASVKG	BCMA-25 CDR- H2 (aa) Kabat 넘버링
39	WSAPTDY	BCMA-25 CDR- H3 (aa)
40	RASQGISNYLA	BCMA-25 CDR-L1 (aa)
41	SASTLQS	BCMA-25 CDR-L2 (aa)
42	QQSYTSRQT	BCMA-25 CDR-L3 (aa)
43	ctatgccatgtcctgttcaggcaggcaccaggcaagggcc	BCMA-25 예측 스플라이스 수용체 부위
44	gtccgcctctgtggcgatagggtgaccgtgacatgtcgcg	BCMA-25 예측 스플라이스 수용체 부위
45	gtgggctttatccgctctaaggcctacggcgccaccacaga	BCMA-25 예측 스플라이스 수용체 부위

[1076]

46	gtgacatgtcgcgcctccagggtcatctctaactacctggc	BCMA-25 예측 스플라이스 수용체 부위
47	tacagcgcctccaccctgcagagcggagtgccctcccggtt	BCMA-25 예측 스플라이스 수용체 부위
48	ctatgccatgtcctggttcaagcaggcaccaggcaagggcc	BCMA-25 예측 스플라이스 수용체 부위 (O/SSE)
49	EVQLVQSGGGLVQGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGL EWVGFIRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDT AVYYCAAWSAPTQYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPAFLSASVGRVTVTCRASQGISNYLAWYQQKPGNAPRLIIY SASTLQSGVPSRFRGTGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYVCQQSYTSRQT FGPGTRLDIK	BCMA-25 scFv 서열 (aa)
50	gaggtgcagctggtgcagagcggaggaggcctggtgcagcctggcaggtccctgc gcctgtcttgaccgccagcggcttcacattggcgactatgccatgtcctggttcagg caggcaccaggcaaggcctggagtggtgggtttatccgctctaaggcctacgg cggcaccacagagtatgccgcagcgtgaaggccggtcaccatcagccgggac gactctaagagcatgcctacctgcagatgaactctctgaagaccgaggacacagcc gtgtactattgcgcagcatggagcgcccaaccgattattggggccagggcaccctg gtgacagtgcagctccggcggcggcgtctggaggaggaggaagcggaggagg aggatccgacatccagatgacacagtcctctgtctcgccctctgtggcgata gggtgaccgtgacatgtcgcgcctccagggcctctctaactacctggcctggtatca gcagaagcccggaatgccctcggtgctgatctacagcgctccaccctgcagag cggagtgccctcccggttcagaggaaccggctatggcacagagttttctctgaccatc gacagcctgcagccagaggatttcgccacatactattgtcagcagctttacaccagcc ggcagacatttgccccggcacaagactggatatcaag	BCMA-25 scFv (nt)

[1077]

51	gagggtgcagctggtgcagagcggaggaggcctggtgcagcctggcaggtccctgc gcctgtcttgaccgccagcggttcacatttggcgactatgccatgtcctggtcaag caggcaccaggcaaggcctggagtggtggtggtttatccgctctaaggcctacgg cggcaccacagagatgcccgcagcgtgaaggccggttcaccatcagccgggac gactctaagagcatcgctacctgcagatgaactctctgaagaccgaggacacagcc gtgtactatttgcgcagcatggagcgcggcccaaccgattattggggccagggcaccctg gtgacagtgcgctccggcgcggtgctctggaggaggaggaaagcggaggagg aggatccgacatccagatgacacagtcctcctgtcttctgctcctctgtggcgata gggtgaccgtgacatgtcgccctccaggcctcttaactacctggcctggtatca gcagaagcccgcaatgcccctcggtgctgatctacagcgcctccaccctgcagag cggagtgcctcccggttcagaggaaaccggtatggcacagagttttctgaccatc gacagcctgcagccagaggatttcgccacatactattgtcagcagtttacaccagcc ggcagacatttggccccgcacaagactggatatcaag	BCMA-25 scFv (nt) (O/SSE)
52	EVQLVQSGGGLVQPGRLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGL EWVGFIRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDT AVYYCAAWSAPTQYWGQGLTVTVSS	BCMA-25 VH 사슬 (aa)
53	DIQMTQSPAFLSASVGRVTVTCRASQGISNYLAWYQQKPGNAPR LLIYASTLQSGVPSRFRGTGYGTEFLTIDSLQPEDFATYYCQSYTS RQTFGPGRDLIK	BCMA-25 VL 사슬 (aa)
54	VDGPPSFDI	BCMA-26 CDR- H3 (aa)
55	GANNIGSKSVH	BCMA-26 CDR-L1 (aa)
56	DDDRPS	BCMA-26 CDR-L2 (aa)
57	HLWDRSRDHVY	BCMA-26 CDR-L3 (aa)
58	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKVDGPPSFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGSSVYLT QPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPMLVYD DDDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRD HYVFGTGTCLTVL	BCMA-26 scFv 서열 (aa)

[1078]

59	gagggtgcagctggtggagtcggaggaggcctggtgaagccaggaggctctctga ggctgagctgcgcagcctccggcttcaccttttctgactactatagctggatcagg caggcaccaggcaagggcctggagtggtgtcttacatcagctcctctggcagcaca atctactatgccgactccgtgaaggcagggttcaccatctctcgcgataacccaaga atagcctgtatctgcagatgaactccctcgggccgaggatacagcctgtactattg cgccaagggtggacggcccccttctttgatatctggggccagggcacaatggtgac cgtgagctccggaggaggagatccggcggaggaggctctggcggcggcggctc tagctatgtgctgacccagccaccatccgtgtctgtggcacctggacagacagcaag gatcacctgtggagcaacaatatcggcagcaagtcctgactgtaccagcagaa gcctggccaggcccaatgctggtgtgtatgacgatgacgatcgccagcggca tcctgagagattttctggcagcaactccggcaataccgcacactgacctctctgga gtggaggcaggcagcaggcagattactctgtcacctgtgggacggagcagag atcactacgtgttcggcacaggcaccaagctgacctgtgctg	BCMA-26 scFv (nt)
60	gagggtgcagctggtggagtcggaggaggcctggtgaagccaggaggctctctga ggctgagctgcgcagcctccggcttcaccttttctgactactatagctggatcagg caggcaccaggcaagggcctggagtggtgtcttacatcagctcctctggcagcaca atctactatgccgactccgtgaaggcagggttcaccatctctcgcgataacccaaga atagcctgtatctgcagatgaactccctcgggccgaggatacagcctgtactattg cgccaagggtggacggcccccttctttgatatctggggccagggcacaatggtgac cgtgagctccggaggaggagatccggcggaggaggctctggcggcggcggctc tagctatgtgctgacccagccaccatccgtgtctgtggcacctggacagacagcaag gatcacctgtggagcaacaatatcggcagcaagtcctgactgtaccagcagaa gcctggccaggcccaatgctggtgtgtatgacgatgacgatcgccagcggca tcctgagagattttctggcagcaactccggcaataccgcacactgacctctctgga gtggaggcaggcagcaggcagattactctgtcacctgtgggacggagcagag atcactacgtgttcggcacaggcaccaagctgacctgtgctg	BCMA-26 scFv (nt) (Q/SSE)
61	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSFYMSWIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKVDGPPSFDIWGQGTMVTVSS	BCMA-26 V _H 사슬 (aa)
62	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHWYQQKPGQAPML VYVDDDDRPSGIPERFSGNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWD RSRDHYVFGTGKLTVL	BCMA-26 V _L 사슬 (aa)
63	GYSFTSYW	BCMA-52 CDR- H1 (aa)

[1079]

64	GYSFTSYWIG	BCMA-52 CDR-H1 (aa) - AbM 넘버링
65	GYSFTSY	BCMA-52 CDR-H1 (aa) - Chothia 넘버링
66	SYWIG	BCMA-52 CDR-H1 (aa) - Kabat 넘버링
67	IYPGDSDT	BCMA-52 CDR-H2 (aa)
68	IIYPGDSDTR	BCMA-52 CDR-H2 (aa) - AbM 넘버링
69	YPGDSD	BCMA-52 CDR-H2 (aa) - Chothia 넘버링
70	IIYPGDSDTRYSPSFQG	BCMA-52 CDR-H2 (aa) - Kabat 넘버링
71	ARYSGSFDN	BCMA-52 CDR-H3 (aa)
72	YSGSFDN	BCMA-52 CDR-H3 (aa) - Kabat, Chothia 및 AbM 넘버링
73	SSNIGSHS	BCMA-52 CDR-L1 (aa)
74	SGTSSNIGSHSVN	BCMA-52 CDR-L1 (aa) - Kabat, Chothia 및 AbM 넘버링
75	TNN	BCMA-52 CDR-L2 (aa)

[1080]

76	TNNQRPS	BCMA-52 CDR-L2 (aa) - Kabat, Chothia 및 AbM 넘버링
77	AAWDGSLNGLV	BCMA-52 CDR-L3 (aa) - Kabat, Chothia 및 AbM 넘버링
78	ctggccatcagtgccctccagtctgaggatgaggctgatta	BCMA-52 예측 스플라이스 수용체 부위
79	agatacagcccgctcttccaaggccagtcacatctcagc	BCMA-52 예측 스플라이스 수용체 부위
80	ctggctatttctggactgcagagcaggacgaggccgacta	BCMA-52 예측 스플라이스 수용체 부위 (O/SSE)
81	agatacagccctagcttccaggccacgtgacatcagcgc	BCMA-52 예측 스플라이스 수용체 부위 (O/SSE)
82	tcctatgagctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagagggtcacc atgtcttcttctggaaccagctccaacatcggaagtcactctgtaaaactgtaccagca gctcccaggaacggccccaaactcctcatctataataatcagcgccctcaggg gtccctgaccgattctctggtccaagtctggcacctcagcctccctggccatcagtgg cctccagtctgaggatgaggctgattattactgtgcagcatggatggcagcctgaat ggtctggtattcggcgagggaaccaagctgaccgtcctaggtctagagggtggtggt ggtagcggcgcgcggtctctggtggtggtggtcctcgagatggccgaggtgc agctggtgcagctctggagcagaggtgaaaaagccggggagtctctgaagatctcc tgtaagggttctgatacagcttaccagctactggatcggtgggtgcgcccagatgc ccgggaaaggcctggagtggtgggatcatctatcctggtgactctgataccagat acagcccgtcctccaaggccacgtcaccatctcagctgacaagtcacatcagcactgcc tacctgcagtgagcagcctgaaggcctcggaaccgcatgtattactgtgcgcgt actctggttcttgcataactgggtcaagggtactctggtgaccgtctcctca	BCMA-52 scFv

[1081]

83	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNWWYQLPGTAPK LLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEADYYCAAWD GSLNGLVFGGGTKLTVLGSRGGGSGGGGSGGGGSEMAEVQLVQ SGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKLEWMGIIYP GDS DTRYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCYCARYS GSFDNWWGQGLTVTVSS	BCMA-52 scFv (aa)
84	agctatgagctgacacagcctccaagcgctctggcacacctggacagcgagtgcaca atgagctgtagcggcaccagcagcaacatcgccagccacagcgtgaactggtatca gcagctgcctggcacagccctaaactgctgatctacaccaacaaccagcgccctag cggcgtgcccgatagattttctggcagcaagagcggcacaagcgcagcctggctat ttctggactgcagagcgaggacgagcgactattattgtgccgctgggacggctc tctgaacggcctgtttttggcgaggcaccaagctgacagtgctgggactagaggt ggcggaggatctggcggcgagggaagcggaggcggcggatctcttgaatggct gaagtgcagctggtgcagctctggcggcgaagtgaagaagcctggcgagagcctga agatcagctgcaaaaggcagcggctacagcttcaccagctactggatcggtgggtcc gacagatgcctggcaaaaggccttgatggatgggcatcatctacccggcgacagc gacaccagatacagccctagctttcagggccagtgaccatcagcgccgacaagtct atcagcaccgctacctgcagtggtccagcctgaaggcctctgacaccgccatgtact actgcgccagatactctggcagcttcgacaattggggccagggcacactggtcaccg tgtccagc	BCMA-52 scFv (nt) (O/SSE)
85	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDS DTRYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARYSGSFDNWWGQGLTVTVSS	BCMA-52 VH 사슬 (aa)
86	gagggtgcagctggtgcagctctggagcagagtgaaaaagccggggagtctctga agatctcctgtaagggttctggatacagctttaccagctactggatcggtgggtgcg ccagatgcccgggaaaggcctggagtgatggggtatcatctatcctggtgactctga taccagatacagcccgctctccaaggccacgtcaccatctcagctgacaagtcacatca gcactgcctacctgcagtgaggcagcctgaaggcctcgacaccgccatgtattact gtgcgcgctactctggtctttcgataactggggcaagggtactctggtgaccgtctct cagc	BCMA-52 VH 사슬 (nt)

[1082]

87	gaagtcagctggtgagctctggcgccgaagtgaagaagcctggcgagagcctga agatcagctgcaaaggcagcggtacagcttcaccagctactggatcggtgggtcc gacagatgcctggcaaaggccttgagtgatgggcatcatctacccggcgacagc gacaccagatacagccctagctttcagggccacgtgacctcagcgccgacaagtct atcagcaccgcctacgtcagtggtccagcctgaaggcctctgacaccgcatgtact actgcgccagatactctggcagcttcgacaattggggccagggcacactggtcaccg tgtccagc	BCMA-52 VH 사슬 (nt) (O/SSE)
88	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNWWYQLPGTAPK LLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD GSLNGLVFGGKTLTVLG	BCMA-52 VL 사슬 (aa)
89	tcctatgagctgactcagccaccctcagcgtctgggaccccgggcagaggtcacc atgtctgttctggaaccagctccaacatcggaagtcactctgtaactggtaccagca gctccaggaacggcccccactcctcatctataataatcagcgccctcaggg gtccctgacgattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcagtg cctccagctgaggtgaggtgattattactgtgcagcatgggatggcagcctgaat ggctgtgtattcgcgaggaggaccaagctgacctcctaggt	BCMA-52 VL 사슬 (nt)
90	agctatgagctgacacagcctccaagcgctctggcacacctggacagcgagtgaca atgagctgtagcggcaccagcagcaacatcggcagccacagcgtgaactggtatca gcagctgcctggcacagccctaaactgctgatctacaccaacaaccagcgccctag cggcgtgcccgatagattttctggcagcaagagcggcacaagcgccagcctggctat ttctggactgcagagcgaggacgagggcgactattattgtgccgctgggacggctc tctgaacggcctgtttttggcgaggaccaccaagctgacagtgtctggga	BCMA-52 VL 사슬 (nt) (O/SSE)
91	QNEYF	BCMA-52-scFV- mFc BCMA 결합 에피토프 1
92	CIPCQL	BCMA-52-scFV- mFc BCMA 결합 에피토프 2
93	CQRYC	BCMA-52-scFV- mFc BCMA 결합 에피토프 3
94	GYTFIDYY	BCMA-55 CDR- H1 (aa)

[1083]

95	GYTFIDYVVY	BCMA-55 CDR-H1 (aa) - AbM 넘버링
96	GYTFIDY	BCMA-55 CDR-H1 (aa) - Chothia 넘버링
97	DYVVY	BCMA-55 CDR-H1 (aa) - Kabat 넘버링
98	INPNSGGT	BCMA-55 CDR-H2 (aa)
99	WINPNSGGTN	BCMA-55 CDR-H2 (aa) - AbM 넘버링
100	NPNSGG	BCMA-55 CDR-H2 (aa) - Chothia 넘버링
101	WINPNSGGTNYAQKFQG	BCMA-55 CDR-H2 (aa) - Kabat 넘버링
102	ARSQRDGYMDY	BCMA-55 CDR-H3 (aa)
103	SQRDGYMDY	BCMA-55 CDR-H3 (aa) - Kabat, Chothia 및 AbM 넘버링
104	ISCTGTSSD	BCMA-55 CDR-L1 (aa)
105	TGTSSDVG	BCMA-55 CDR-L1 (aa) - Kabat, Chothia 및 AbM 넘버링
106	EDS	BCMA-55 CDR-L2 (aa)

[1084]

107	EDSKRPS	BCMA-55 CDR-L2 (aa) - Kabat, Chothia 및 AbM 넘버링
108	SSNTRSSTLV	BCMA-55 CDR-L3 (aa) - Kabat, Chothia 및 AbM 넘버링
109	gccctcaggggttttaatacgtctctcgtgctccaagtctg	BCMA-55 예측 스플라이스 수용체 부위
110	cgaggctgattattactgcagctcaatacaagaagcagca	BCMA-55 예측 스플라이스 수용체 부위
111	cgaggcgcattactactgcagcagcaacacccgggtccagca	BCMA-55 예측 스플라이스 수용체 부위 (O/SSE)
112	gccacgcggcgtgtccaatagattcagcggcagcaagagcg	BCMA-55 예측 스플라이스 수용체 부위 (O/SSE)
113	caatctgccctgactcagcctgcctccgtgtcgtctcctggacagtcgatgccatc tcctgcactggaaccagcagtgacgttggttggtatcaacagcaccaggcaagcc cccaaaactcatgatttatgaggacagtaagcggccctcaggggttttaatacgtctct ggctccaagtctggcaacacggcctccctgacctctctgggtccaggctgaggac gaggctgattattactgcagctcaatacaagaagcagcactttggtgttcggcggag ggaccaagctgaccgtcctaggttctagagtggtggtgtagcggcggcgcg ctctggtggtggtggtccctcgagatggccgaagtgcagctggtcagctctggg ctgagatgaagaagcctggggcctcactgaagctctcctgcaaggcttctggatacac cttcacgactactatgtatactggatgcgacaggccctggacaaggccttgagtcc atgggatggatcaaccctaacagtgggtggcacaactatgcacagaagtttcagggc aggggtaccatgaccaggacacgtccatcagcacagcctacatggagctgagcag gctgagatctgacgacaccgcatgtattactgtgcgcgtccagcgtgacggttac atggattactggggfcaaggtactctggtgaccgtctctca	BCMA-55 scFv

[1085]

[illegible]

118	gaagtgcagctggtgcagctctggcgccgagatgaagaaacctggcgccctctctgaa gctgagctgcaaggccagcggtacaccttcacgactactacgtgtactggatgcg gcaggcccttgacaggggactcgaatctatggctggatcaaccccaatagcggcg gcaccaattacgcccagaaattccagggcagagtgacctgaccagagacaccagc atcagcaccgcctacatggaactgagccgctgagatccgacgacccgcatgtac tactgcgccagatctcagcgacggtacatggattattggggccagggaaccttg gtcaccgtgtccagc	BCMA-55 V _H 사슬 (nt) (O/SSE)
119	QSALTQPASVSASPGQSIASICTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIE DSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSNTRSSTLV FGGGTKLTVLG	BCMA-55 V _L 사슬 (aa)
120	caatctgccctgactcagcctgctccgtgtctgctctcctggacagctcgtccatc tctgactggaaccagcagtgacgttggttggtatcaacagcaccaggcaagcc cccaaaactcatgattatgaggacagtaagcgccctcagggtttctaatcgttctc ggctccaagtctggcaacacggcctccctgacctctctgggtccaggctgaggac gaggctgattattactgcagctcaaatacaagaagcagcactttggttcgcgag ggaccaagctgaccgtccta	BCMA-55 V _L 사슬 (nt)
121	cagtctgccctgacacagcctgccagcgttagtgctagtcccgacagctctatgccat cagctgtaccggcaccagctctgacgttggttggtatcagcagcaccctggcaagc ccctaagctgatgatctacgaggacagcaagaggccagcggcgtgtccaatagatt cagcggcagcaagagcggcaacaccgccagcctgacaattagcggactgcaggcc gaggacgagggcgattactactgcagcagcaacaccgggtccagcacactggtttt ggcggaggcaccaagctgacagtgtg	BCMA-55 V _L 사슬 (nt) (O/SSE)
122	MLMAG	BCMA-55-scFv- mFc BCMA 결합 에피토프 1
123	VFDSL	BCMA-55-scFv- mFc BCMA 결합 에피토프 2
124	QLRCSSNTPPL	BCMA-55-scFv- mFc BCMA 결합 에피토프 3
125	QIQLVQSGPELKKPGETVKISKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKW MGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATVF CALDYSYAMDYWGQGTSTVTVSS	BCMA-C1 V _H 사슬 (aa)

[1087]

126	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTDYSINWVKRAPGKGLKW MGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYF CALDYSYAMDYWGQGTSTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVLTQS PPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQKPGQPPTLLIQLAS NVQGTGVPARFSGSGSRDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSR TIPRTFGGGTKLEIK	BCMA-C1 V_H - V_L scFv (aa)
127	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQKPGQPP TLIQLASNVQGTGVPARFSGSGSRDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSR TIPRTFGGGTKLEIK	BCMA-C1 V_L 사슬 (aa)
128	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIHWYQKPGQPP TLIQLASNVQGTGVPARFSGSGSRDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSR TIPRTFGGGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGIQLVQSGPELKKPGET VKISCKASGYFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYD FRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQG TSVTSS	BCMA-C1 V_L - V_H scFv (aa)
129	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYFTNFGMNWVKQAPGKGF KWMWINTYTGESYFADDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNKTEDTA TYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGLVTVSAGGGSGGGSGGGSGGG DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQKPGQSP KLLIFSASYRYTGVPDRFTGSGGADFTLTSSVQAEDLAVYYCQQHY STPWTFGGGTKLDIK	BCMA-C2 V_H - V_L scFv (aa)
130	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQKPGQSP KLLIFSASYRYTGVPDRFTGSGGADFTLTSSVQAEDLAVYYCQQHY STPWTFGGGTKLDIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGIQLVQSGPDLKKPG ETVKLSCKASGYFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMWINTYTGESYF ADDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNKTEDTATYFCARGEIYYGYDGG FAYWGQGLVTVSA	BCMA-C2 V_L - V_H scFv (aa)
131	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYFTNFGMNWVKQAPGKGF KWMWINTYTGESYFADDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNKTEDTA TYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGLVTVSA	BCMA-C2 V_H 사슬 (aa)
132	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQKPGQSP KLLIFSASYRYTGVPDRFTGSGGADFTLTSSVQAEDLAVYYCQQHY STPWTFGGGTKLDIK	BCMA-C2 V_L 사슬 (aa)
133	QNEYFDSLL	BCMA 에피토프

[1088]

134	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLEPGPSKP	CD28 엑토도메인 스페이스 (aa)
135	attgaagtattgtatcctcctctacctagacaatgagaagagcaatgaaccattatc catgtgaaagggaacacctttgtccaagtccttattccggaccttctaagccc	CD28 엑토도메인 스페이스 (nt)
136	RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHVQPYAPPRDFAAYRS	CD28 엔도 (aa)
137	aggagtaagaggagcaggctcctgcacagtactacatgaacatgactccccgcg ccccggggccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgagcc tatcgctcc	CD28 엔도 (nt)
138	MFWWLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 막관통 도메인 (aa)
139	atgttttgggtgctggtcgtggcgaggggctggtgctgttacagcctgctggtga cagtcgcttcatcatctctgggtg	CD28 막관통 도메인 (nt)
140	atgttctgggtgctggtgctgtggcgagtgctggcctgttacagcctgctggtac cgtggccttcatcatctttgggtc	CD28 막관통 도메인 (nt)
141	aggggtgctggcctgttacagcctgctggtgacagtcgctt	CD28TM 예측 스플라이스 수용체 부위
142	MPLLLLLPLLWAGALA	CD33 신호 펩타이드
143	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3-제타 유래 세포내 신호전달 도메인 (aa)
144	agagtcaagtttccagggtccgacgctccagcctaccagcaggggcagaacca gctgtacaacgagctgaacctgggcagaagggaagagtagcagctcctggataag cggagagggccgggacctgagatggcggaagcctcggaagaacccccag gaaggcctgtataacgaactgcagaaagacaagatggcgaggcctacagcgaga tcggcatgaaggcgagcgaggcggggaaggccacgagcctgtatcag ggcctgtccaccgccaagagatactacgacgcctgcacatgcaggccctgccc ccaagg	CD3-제타 유래 세포내 신호전달 도메인 (nt)

[1089]

145	agagtgaagttcagcagatccgccgacgtccagcctatcagcagggccaaaacca gctgtacaacgagctgaacctggggagagagaagagtacgacgtgctggataag cggagaggcagagatcctgaaatggcggaagcccagacggaagaatcctcaa gagggcctgtataatgagctgcagaaagacaagatggccgaggcctacagcgaga tcggaatgaaggcgagcgagagaggaagggacacgagtgactgtaccagg gcctgagcaccgccaccaaggatacctatgacgcactgcacatgcaggccctgccac ctaga	CD3-제타 유래 세포내 신호전달 도메인 (nt)
146	MALPVTALLPLALLHA	CD8 알파 신호 펩타이드
147	MLQMARQCSQNEYFSLLDCKPCQLRCSSTPPLTCQRYCNASMT NSVKGMNAILWTCLGLSLIISLAVFVLTFLLRKMSSEPLKDEFKNTGSG LLGMANIDLEKGRGTGDEIVLPRGLETVVEECTCEDCIKNKPKVDSDDHC FPLPAMEEGATILVTTKTNDYCNLSAALSVEIEKSISAR	시노물구스 BCMA; GenBank No. EHH60172.1
148	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A 펩타이드 (aa)
149	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A 펩타이드 (aa)
150	cttttgcgaacgggttgc	EF1a/HTLV 프로모터 정방향 프라이머
151	ggatctgcgatcgctccggtgccgctcagtgaggcagagcgacatgccacagtc ccgagaagttgggggaggggtcggaattgaaccggtgcctagagaaggtggc gcggggtaaacgggaaagtgtgtgtactgtgctcgcccttttccgagggtg ggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgaacgggt tgccgccagaacacagctgaagcttcgaggggtcgcatctctcttcacgcgccgc cgccctacctgaggccgccatccacgggttgagtcggttctgccctccgcct gtggtgcctcctgaactgcgtccgctctaggttaagttaagctcaggtcgagacc gggctttgtccggcgtcccttgagcctacactagactcagccggtctccacgttt gcctgaccctgtgtcactctacgtctgtttctgttctgtgcgccgttacagat ccaagctgtgaccggcgccctac	HTLV1 인핸서를 갖는 EF1 알파 프로모터
152	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A 펩타이드 (aa)
153	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A 펩타이드 (aa)
154	MLLVTSLLLCELPHPAFLIP	GMCSFR 알파 사슬 신호 펩타이드
155	atgcttctcctggtgacaagccttctgctctgtgagttaccacaccagcattctctga tcca	GMCSFR 알파 사슬 신호 서열

[1090]

156	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK	한지-C ₁₁ 2-C ₁₁ 3 스페이서 (aa)
157	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK	한지-C ₁₁ 3 스페이서 (aa)
158	LLHACIPCQLR	인간 BCMA 에피토프 (17-27 잔기)
159	CIPCQLR	인간 BCMA 에피토프 (21-27 잔기)
160	SNTPLTCQR	인간 BCMA 에피토프 (30-39 잔기)
161	SVTNSVK	인간 BCMA 에피토프 (44-50 잔기)
162	CSQNEYF	인간 BCMA 에피토프 (8-15 잔기)
163	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTNPPLTCQRYCNARS GLLGMANIDLEKSRGTDEIILPRGLETVVECTCEDCIKSKPKVDSDDHC FPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR	인간 BCMA 변이체; GenBank No. ABN42510.1
164	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTNPPLTCQRYCNASVT NSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKISSEPLKDEFKNTGSG LGMANIDLEKSRGTDEIILPRGLETVVECTCEDCIKSKPKVDSDDHCF LPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR	인간 BCMA; GenBank No. BAB60895.1
165	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTNPPLTCQRYCNASVT NSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSG LGMANIDLEKSRGTDEIILPRGLETVVECTCEDCIKSKPKVDSDDHCF LPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR	인간 BCMA; NCBI No. NP_001183.2

[1091]

166	MVLQTQVFISLLLWISGAYG	인간 IgG -카파 신호 펩타이드 서열 (aa)
167	atgggtgctgcagaccagggtgttcacgcctgctgctgtggatctccggagcatacg ga	인간 IgG -카파 신호 서열 (nt)
168	atgggtgctgcagacacagggtgttcacgcctgctgctgtggatctccggagcatacg ga	인간 IgG -카파 신호 서열 (nt)
169	atgggtgctgcagaccagggtgttcacgcctgctgctgtggatctctggcgctacg gc	인간 IgG -카파 신호 서열 (nt)
170	atgggtgctgcagaccagggtgttcacgcctgctgctgtggatctctggcgctatg ga	인간 IgG -카파 신호 서열 (nt)
171	atgggtgctgcagacacagggtgttcacgtccctgctgctgtggatctctggagcatacg ga	인간 IgG -카파 신호 서열 (nt)
172	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQYTCNVDPKPSNTKVD KVERKCCVECPGPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKISKKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	인간 IgG2 Fc (Uniprot P01859)
173	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVD KRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	인간 IgG4 Fc (Uniprot P01861)
174	ESKYGPPCPGPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	변형된 IgG4 힌지- IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4 C _H 3 스페이서 (aa)

[1092]

175	gaatctaagtacggaccgcctgcccctgcccctgctcctctgtggctggaccaag cgtgttctctgtttccacctaagcctaagataccctgatgtttccgcacacctgaagt gacttgctggtcgtggacgtgagccaggagatccagaagtgagttcaactggt acgtggacggcgtggaggtccacaatgctaagactaaaccccgagaggaaacagttt cagtcacactaccgggtcgtgagcgtgctgaccgtcctgcatcaggattggctgaacg ggaaggagtataagtgcacaagtgtctaataagggactgcctagctccatcgagaaaa caattagtaaggcaaaaggcagcctcgagaaccacaggtgtataccctgccccta gccaggaggaaatgaccaagaaccaggtgtccctgacatgctgtgtaaaggcttct atccaagtacatcgccgtggagtggaatcaaatggcgagcccgagaacaattac aagaccacaccaccctgctggactctgatggaagtttcttctgtattccaggctgacc gtggataaatctcgtggcaggagggaacgtgttctctgagtgatgcacgaa gccctgcacaatcattatacacagaagtcactgagcctgctcctgggcaaa	변형된 IgG4 힌지- IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4 C _H 3 스페이서 (nt)
176	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	링커 (aa)
177	tttatttagtctccagaaaaagggggaatgaaagacccacctgtaggtttgcaag ctaggatcaaggtaggaacagagagacagcagaatatgggccaacaggatatct gtggttaagcagttctctccccgctcaggggccaagaacagtggaacagcagaatat gggccaacaggatatctgtgtaagcagttctctccccgctcaggggccaagaac agatgggtcccagatgcggtcccctcagcagtttctagagaaccatcagatgttc cagggtgccccaaaggactgaaatgacctgtgccttatttgaactaaccaatcagttc gcttctcgttctgttcgcgcttctgctccccgagctcaataaaagagccca	MND 프로모터
178	ggatctcgatcgtccggtgcccgtcagtgggcagagcgacatgcccacagtc ccgagaagttgggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaagtggtg gcggggtaaactgggaaagtgtgtgtgtactggtcgccttttccgaggggtg ggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgcgtgaacgttcttttcgcaacgggtt tgccgcagaaacacagctgaagcttcgaggggtcgcacatctcttcacgcggcgc cgccctacgtgaggcgccatccacgcgggttgagtcgcgttctgcccctccgcct gtggtgctcctgaactgcgtccgctctaggttaagttaagctcaggtcgagacc gggcctttgtccggcgtcccttgagcctacctagactcagccggtctccacgctt gcctgacctgctgtcactctacgtctttgtttctgttctgctgcggttacagat ccaagctgtgaccggcgctacggctagcgcc	변형된 EF1 알파 프로모터
179	MAQQCFHSEYFDSLHACKPCHLRCSNPPATCQPYCDPSVTSSVKG TYTVLWIFLGLTLVLSLALFTISFLLRKMNPEALKDEPQSPGQLDGSQAQ LDKADTELTRIRAGDDRIFRSLVTVVEECTCEDCVKSKPKGDSDFHFP LPAMEEGATILVTTKTGDYKGSSVPTALQSVMGMEKPTHTR	마우스 BCMA; NCBI No. NP_035738.1

[1093]

180	cagtttctctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa	최적화된 스플라이스 수용체 부위
181	gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgagccctgc	최적화된 스플라이스 수용체 부위
182	cggagtgctggcctgttacagcctgctggtaccgtggcct	최적화된 스플라이스 수용체 부위
183	gctgagagtgaagttcagcagatccgccgacgtccagcct	최적화된 스플라이스 수용체 부위
184	acacctccactggatcccaagagctggatatcctgaaaac	최적화된 스플라이스 수용체 부위
185	accggattctctctgatccaagcctggccagagaacagaaac	최적화된 스플라이스 수용체 부위
186	acggccagtttagcctggctgtggtgtctctgaacatcacc	최적화된 스플라이스 수용체 부위
187	aagtttcttctgtattccagactgaccgtggataaatctc	최적화된 스플라이스 수용체 부위
188	cgccttgctctctgtgccgctcctctgttgccggacct	최적화된 스플라이스 수용체 부위
189	agtcataatacggac	최적화된 스플라이스 공여체 부위
190	tcaactggtatgtgg	최적화된 스플라이스 공여체 부위

[1094]

191	accatctccaaggcc	최적화된 스플라이스 공여체 부위
192	gccccaggtttacac	최적화된 스플라이스 공여체 부위
193	tcagcagatccgccg	최적화된 스플라이스 공여체 부위
194	ctcctgtgtgaactc	최적화된 스플라이스 공여체 부위
195	tcggaaagtgtgcaa	최적화된 스플라이스 공여체 부위
196	cagcacgccagttt	최적화된 스플라이스 공여체 부위
197	aaccggggcgagaac	최적화된 스플라이스 공여체 부위
198	ctggaagcgagccc	최적화된 스플라이스 공여체 부위
199	tgttcatgtgagcgg	최적화된 스플라이스 공여체 부위 (코딩 영역 외부에서 마지막 4 nt)

[1095]

200	gagctctaaatacggaccgctgtctcctgtgccgctcctcctgtgcccggacctcc gtgttcctgtttcctcaaaagcctaaggacacccctgatgatcagcaggacccctgaagt gacctgcgtggtggtggtgatgtgccaaagagatcccaggtgcagttcaactggta tgtggacggcggtggaagtgcacaacccaagaccaagcctagagaggaacagttc cagagcacctacagagtgtgtccgtgtgacagtgtgcaccaggattggtgaac ggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgctagcagcatcgaga aaacctctccaaggccaaggccagccaagagagccccagggtttacacactgcctc caagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctggtcaagggc ttctacctctcgatatcgccgtggaatggagagcaatggccagcctgagaacaac tacaagaccacacctcctgtgtgacagcgacggcagtttctcctgtatagtagact caccgtggataaatcaagatggcaaggggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgc acgaggccctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaag	최적화된 SSE 변형된 IgG4 힌지- IgG2/IgG4 C _H 2- IgG4 C _H 3 스페이스 (nt)
201	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A 펩타이드 (aa)
202	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A 펩타이드 (aa)
203	cgccctgtcctcctgtccagctcctcctgtgcccggacct	예측 스플라이스 수용체 부위
204	cagtttctcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa	예측 스플라이스 수용체 부위
205	accgattcctcctgattcaggcctggccagagaacagaaac	예측 스플라이스 수용체 부위
206	cgtctaggttaagttt	예측 스플라이스 공여체 부위
207	gaccaaggtgaccgt	예측 스플라이스 공여체 부위
208	tgcactggtaccagc	예측 스플라이스 공여체 부위
209	taaactggtaccagc	예측 스플라이스 공여체 부위
210	atctcctgtaagggt	예측 스플라이스 공여체 부위
211	ggtcaaggtactctg	예측 스플라이스 공여체 부위

[1096]

212	gaggacagtaagcgg	예측 스플라이스 공여체 부위
213	ggtaagggtactctg	예측 스플라이스 공여체 부위
214	tgctccgtgtctgc	예측 스플라이스 공여체 부위
215	caccaagggtgacct	예측 스플라이스 공여체 부위
216	tgaactggtatcagc	예측 스플라이스 공여체 부위
217	atctctgaaatggt	예측 스플라이스 공여체 부위
218	ggccagggcacactg	예측 스플라이스 공여체 부위
219	gaggacagcaagagg	예측 스플라이스 공여체 부위
220	ggccaggggaacctg	예측 스플라이스 공여체 부위
221	tgccagcgttagtgc	예측 스플라이스 공여체 부위
222	aatctaagtacggac	예측 스플라이스 공여체 부위
223	tcaactggtacgtgg	예측 스플라이스 공여체 부위
224	acaattagtaaggca	예측 스플라이스 공여체 부위
225	accacaggtgtatac	예측 스플라이스 공여체 부위
226	ttccaggtccgccg	예측 스플라이스 공여체 부위
227	ctgctctgtgagtta	예측 스플라이스 공여체 부위
228	acgcaaagtgtgtaa	예측 스플라이스 공여체 부위

[1097]

229	caacatggtcagttt	예측 스플라이스 공여체 부위
230	aacagaggtgaaaac	예측 스플라이스 공여체 부위
231	ctggagggtgagcca	예측 스플라이스 공여체 부위
232	tggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatat	프로모터 예측 스플라이스 수용체 부위
233	tgaactcgcgtccgcgttagttaagtttaagctcaggtc	프로모터 예측 스플라이스 수용체 부위
234	ttctgttctgcgcgttacagatccaagctgtgaccggcgc	프로모터 예측 스플라이스 수용체 부위
235	gatatcgaattcctgcagcc	WPRE 의 오직 5' 역방향 프라이머
236	GAGTCTAATACGGACCGCCTTGTCCTCTTGTCAGCTCCTCT GTTGCCGGACCTTCGTTGTTCTGTTCTCCAAAGCCTAAGGAC ACCTGATGATCAGCAGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGT GGATGTGTCCCAAGAGGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACG TGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGA GGAACAGTTCCAGAGCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAG TGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAG GTGTCCAACAAGGGCCTGCTAGCAGCATCGAGAAAACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAGCCCCAGGTTTACACACTGC CTCCAAGCCAAGAGGAAATGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACA TGCCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCGTGGAATGG GAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCACCTCC TGTGCTGGACAGCGACGGCAGTTTCTTCTGTATAGTAGACTCAC CGTGGATAAATCAAGATGGCAAGAGGGCAACGTGTTCACTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAAAGC CTGAGCCTGTCTCTGGGCAA	스페이서 - 코돈 최적화 (nt)
237	ESKYGPPCPPCP	스페이서 (IgG4 힌지) (aa)

[1098]

238	gaatctaagtacggaccgcctgcccccttgccct	스페이서 (IgG4 힌지) (nt)
239	aagtttcttctgtattccaggctgacgtggataaatctc	스페이서 예측 스플라이스 수용체 부위
240	gggcaacgtgttctcttcagtgatgcacgaagccctgc	스페이서 예측 스플라이스 수용체 부위
241	EGRGSLTTCGDVEENPGP	T2A 펩타이드 (aa)
242	GSGEGRGSLTTCGDVEENPGP	T2A 펩타이드 (aa)
243	LEGGEGRGSLTTCGDVEENPGPR	T2A 펩타이드 (aa)
244	ctcgaggcgggcgagaggcagaggaggtcttctaactgcggtgacgtggag gagaatcccgccctagg	T2A 펩타이드 (nt)
245	cttgaagggtggtgcgaaggcagaggcagcctgcttacatgcggagatgtggaag agaaccccgacctaga	T2A 펩타이드 (nt)
246	MLLLVTSLLLCPLPAFLIPRKVCNIGIGEFKDSLSINATNIKHFKN CTSIGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWP ENRTDLHAFENLEIIRGRKQHQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGD VIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCH ALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGECVDKCNLLEGEPRFVENS ECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGV MGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNTPGPKIP SIATGMVGALLLLVVALGIGLFM	절단형 EGFR (tEGFR) 서열 (aa)

[1099]

247	atgcttctctctgtgacaagcctctgctctgtgagttaccacacccagcattctctctga tcccacgcaaaagtgtgtaacggaataggattgtggaatttaagactcactctccata aatgtctacgaatattaaacacttcaaaaactgcacctccatcagtggtgatctccacatc ctgcccgttggtcatttaggggtgactccttcacacatactctctctggatccacagga actggatattctgaaaaccgtaaaaggaaatcacagggttttctgattcaggcttggtc ctgaaaacaggacggacctccatgcttctgagacctagaaatcatagcggcagga ccaagcaacatggtcagttttctctgagtcgagcctgaacataacatccttggtgat tacgctccctcaaggagataagtgatggagatgtgataatttcaggaaacaaaaattt gtgctatgcaatacaataaaactggaaaaaactgttgggacctccggtcagaaaacc aaaattataagcaacagagggtgaaaacagctgcaaggccacaggccaggtctgcca tgcttctgtctccccgagggtctggtgggcccggagcccagggtcgtctcttg ccggaatgtcagccgagcagggaatgctggacaagtcaacctctggagggt gagccaagggttgggtggagaactctgagtcatacagtgccaccagagtgct gcctcaggccatgaacatcacctgcacaggacgggaccagacaactgtatccagtg tgccactacattgacggccccactgcgtcaagacctcccggcaggagtcaggg agaaaacaacacctgtctggaagtacgcagacgccgcatgtgtccacctgtg ccatcaaaactgcactacggatgactggccaggcttgaaggctgtccaacgaat gggcctaagatccgtccatgccactgggatgtgggggcccctctctgtgctgg tggtggccctggggtcggcctctcatgtga	절단형 EGFR (tEGFR) 서열 (nt)

248	atgctgctctctgtgacaagcctgctctgtgtaactccctcatccagctttctgctcat tctcggaaagtgtgcaacggcatcggtcagaggtcaaggacagcctgagca tcaatgcccaacatcaagcacttcaagaattgcaccagcatcagcggcgacctgca cattctgctgtggccttagaggcgacagcttcaccacacacctccactggatcccc aagagctggatctctgaaaaccgtgaaagagattaccggattctctctgatccaaagc ctggccagagaacagaaccgatctgcacgccttcgagaacctcgagatcatcagag gccggaccaaacagcacggcagtttagcctggtgtgtgtctgaacatcacca gtctggcctgagaagcctgaaagaaatctccgacggcgacgtgatctctccggaa acaagaacctgtgctacgccaacacatcaactggaagaagctgttcggcacctcg gccagaaaacaaagatcatcttaaccggggcgagaacagctgcaaggccaccgg acaagtttgcacgcctgtgtagccctgaaggctgttggggacccgaacctagaga ctgtgtgtctcctcggaatgtgtccggggcagagaatgtgtgataagtcaacct gctggaaggcgagcccccgagtttgggaaaacagcagtgcatccagtgacc ccgagtgctgtcccaggccatgaacattatgcacccggcagagccccgacaact gtattcagtgcccccactacatgcagggccctcactgcgtgaaaacatgtccagctgg cgtgatgggagagaacaacacctctgtgtggaagtatgccgacgggacatgtgt gccacctgtgtaccctaattgcactacggctgtaccggacctggcctggaaggatg ccctacaaagccctaaagatccccagcattgccaccggaatgttgagccctgctg cttctgtgtgtgtggcctcggaatcggcctgttcatgtga	절단형 EGFR (tEGFR) 서열 (nt) (O/SSE)
249	actcctcctctggtaccaggaactggatattctgaaaac	절단형 표지자 예측 스플라이스 수용체 부위
250	acagggttttctgattcaggcttgccctgaaaacaggac	절단형 표지자 예측 스플라이스 수용체 부위
251	atggtcagtttctctgtcagtcgacgctgaacataaca	절단형 표지자 예측 스플라이스 수용체 부위
252	tcttcatgtgagcgg	절단형 표지자 예측 스플라이스 공여체 부위

253	aatcaacctctggattacaaaattgtgaaagattgactggtattcttaactatgtgtctc cttttacgctatgtggatagcgtctttaatgcctttgtatcatgctattgctcccgatgg ctttcattttctcctctgtataaatcctggtgtgtctctttatgaggagttgtggccg ttgtcaggcaacgtggcggtgtgtgactgtgtttgtgacgcaacccccactggttg ggcattgccaccacgtgtcagctcctttcgggacttgcctttccccctccattgcc acggcggaactcatcgccgctgcttgccttgcctgctgacaggggctcggtgttg ggcactgacaattccgtgtgtgtgtgggaaatcatgctccttcttggtgctgcgc tgtgtgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtccctcgccctcaat ccagcgaccttctcctcgccgctgctgcggctctgcggccttccgctcttg cctcgccctcagacgagtcggtatctccttgggcccctccccgc	우드릭 간염 바이러스(WHP) 전사 후 조절 요소(WPRE)
254	tcaattggtacgtgg	예측 스플라이스 부위
255	SRGGGGSGGGSGGGGSLEMA	링커 (aa)
256	DPSKDSKAQVSAEAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGTYESAV GNAESRYVLTGRYDSAPATDGS GTALGWTVAWKNNYRNAHSATT WSGQYVGGAEARINTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPS AASIDAARKAGVNNNGNPLDAVQQ	스트렙타비딘 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii) UniProt 번호 P22629
257	EAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGTYESAVGNAESRYVLTGRY DSAPATDGS GTALGWTVAWKNNYRNAHSATTWSGQYVGGAEARI NTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPSAAS	미량의 스트렙타비딘 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii)
258	His-Pro-Gln-Phe	스트렙타비딘- 결합 펩타이드
259	His-Pro-Xaa	스트렙타비딘 결합 펩타이드 Xaa 는 Gln, Asp, 및 Met 에서 선택된다

[1102]

260	Oaa-Xaa-His-Pro-Gln-Phe-Yaa-Zaa	스트렙타비딘-결합 펩타이드 Oaa 는 Trp, Lys 또는 Arg 이고; Xaa 는 임의의 아미노산이고; Yaa 는 Gly 또는 Glu 이고; Zaa 는 Gly, Lys 또는 Arg 이다
261	-Trp-Xaa-His-Pro-Gln-Phe-Yaa-Zaa-	스트렙타비딘-결합 펩타이드 Xaa 는 임의의 아미노산이고; Yaa 는 Gly 또는 Glu 이고; Zaa 는 Gly, Lys 또는 Arg 이다
262	Trp-Arg-His-Pro-Gln-Phe-Gly-Gly	스트렙타비딘 결합 펩타이드, Strep-tag®
263	WSHPQFEK	Strep-tag® II
264	Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Xaa) _n -Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-	스트렙타비딘-결합 펩타이드의 순차적 모듈들 Xaa 는 임의의 아미노산이고; n 은 8 또는 12 이다

[1103]

265	Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer) _n -Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-	스트렙타비딘-결합 펩타이드의 순차적 모듈들 n 은 2 또는 3 이다
266	WSHPQFEKGGSGGGSGGGWSHPQFEK	트윈-Strep-tag
267	WSHPQFEKGGSGGGSGGGWSHPQFEK	트윈-Strep-tag
268	WSHPQFEKGGSGGGSGGGSAWSHPQFEK	트윈-Strep-tag
269	SAWSHPQFEKGGSGGGSGGGWSHPQFEK	트윈-Strep-tag
270	SAWSHPQFEKGGSGGGSGGGSAWSHPQFEK	트윈-Strep-tag
271	DPSKDSKAQVSAEEAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YVTA R GNAESRYVLTGRYDSAPATDGGSGTALGWTVAWKNNYRNAHSAT TWSGQYVGGAEARINTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPS AASIDAAKAGVNNGNPLDAVQQ	뮤테인 스트렙타비딘 Val44-Thr45- Ala46-Arg47 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii)
272	EAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YVTAR GNAESRYVLTGRY DSAPATDGGSGTALGWTVAWKNNYRNAHSATTWSGQYVGGAEARI NTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPSAAS	뮤테인 스트렙타비딘 Val44-Thr45- Ala46-Arg47 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii)
273	MEAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YVTAR GNAESRYVLTG RYDSAPATDGGSGTALGWTVAWKNNYRNAHSATTWSGQYVGGAE ARINTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPSAAS	뮤테인 스트렙타비딘 Val44-Thr45- Ala46-Arg47 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii)

[1104]

274	DPSKDSKAQVSAEEAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YIGA R GNAESRYVLTGRYDSAPATDGSGTALGWTVAWKNNYRNAHSAT TWSGQYVGGAEARINTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPS AASIDAACKAGVNNGNPLDAVQQ	뮤테인 스트렙타비딘 Ile44-Gly45-Ala- 46-Arg47 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii)
275	EAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YIGAR GNAESRYVLTGRY DSAPATDGSGTALGWTVAWKNNYRNAHSATTWSGQYVGGAEARI NTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPSAAS	뮤테인 스트렙타비딘 Ile44-Gly45-Ala- 46-Arg47 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii)
276	MEAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YIGAR GNAESRYVLTG RYDSAPATDGSGTALGWTVAWKNNYRNAHSATTWSGQYVGGAE ARINTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPSAAS	뮤테인 스트렙타비딘 Ile44-Gly45-Ala- 46-Arg47 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii)
277	EAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YVTAR GNAESRYVLTGRY DSAPATDGSGTALGWTVAWKNNYRNAHSATTWSGQYVGGAEARI NTQWLLTSGTTEENAGYSTLVGHDTFTKVKPSAAS	뮤테인 스트렙타비딘 Val44-Thr45- Ala46-Arg47 및 Glu117, Gly120, Try121 (뮤테인 m1-9) 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto myces avidinii)

[1105]

278	DPSKDSKAQVSAEAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YVTA RGNAESRYVLTGRYDSAPATDGS TALGWTVAWKNNYRNAHSAT TWSGQYVGGAEARINTQWLLTSGTTEENAGYSTLVGHDTFTKVKPS AAS	뮤테인 스트렙타비딘 Val44-Thr45- Ala46-Arg47 및 Glu117, Gly120, Try121 (뮤테인 m1-9) 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto- myces avidinii)
279	MEAGITGTWYNQLGSTFIVTAGADGALTGT YESAVGNAESRYVLTG RYDSAPATDGS TALGWTVAWKNNYRNAHSATTWSGQYVGGAE ARINTQWLLTSGTTEANAWKSTLVGHDTFTKVKPSAAS	미량의 스트렙타비딘 종: 스트렙토마이세스 아비디니(Strepto- myces avidinii)
280	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser	항-CD3 항체 OKT3의 가변 중쇄
281	Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Gly Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn	항-CD3 항체 OKT3의 가변 경쇄

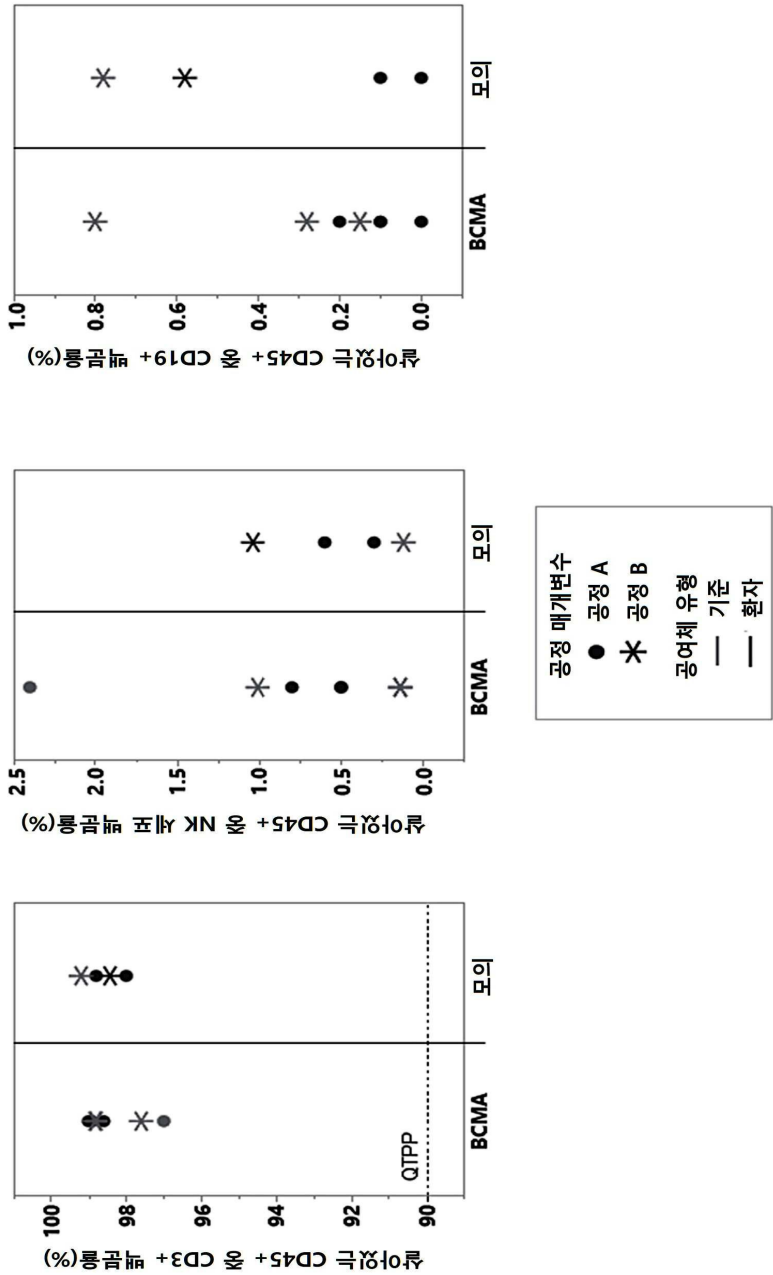
[1106]

282	Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Ile His Trp Ile Lys Leu Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Trp Phe Tyr Pro Gly Ser Asn Asp Ile Gln Tyr Asn Ala Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Thr Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Asp Asp Phe Ser Gly Tyr Asp Ala Leu Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val	항-CD28 항체 CD28.3 의 가변 중쇄
283	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Asn Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Thr His Leu Val Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Thr Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Cys Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	항-CD28 항체 CD28.3 의 가변 경쇄

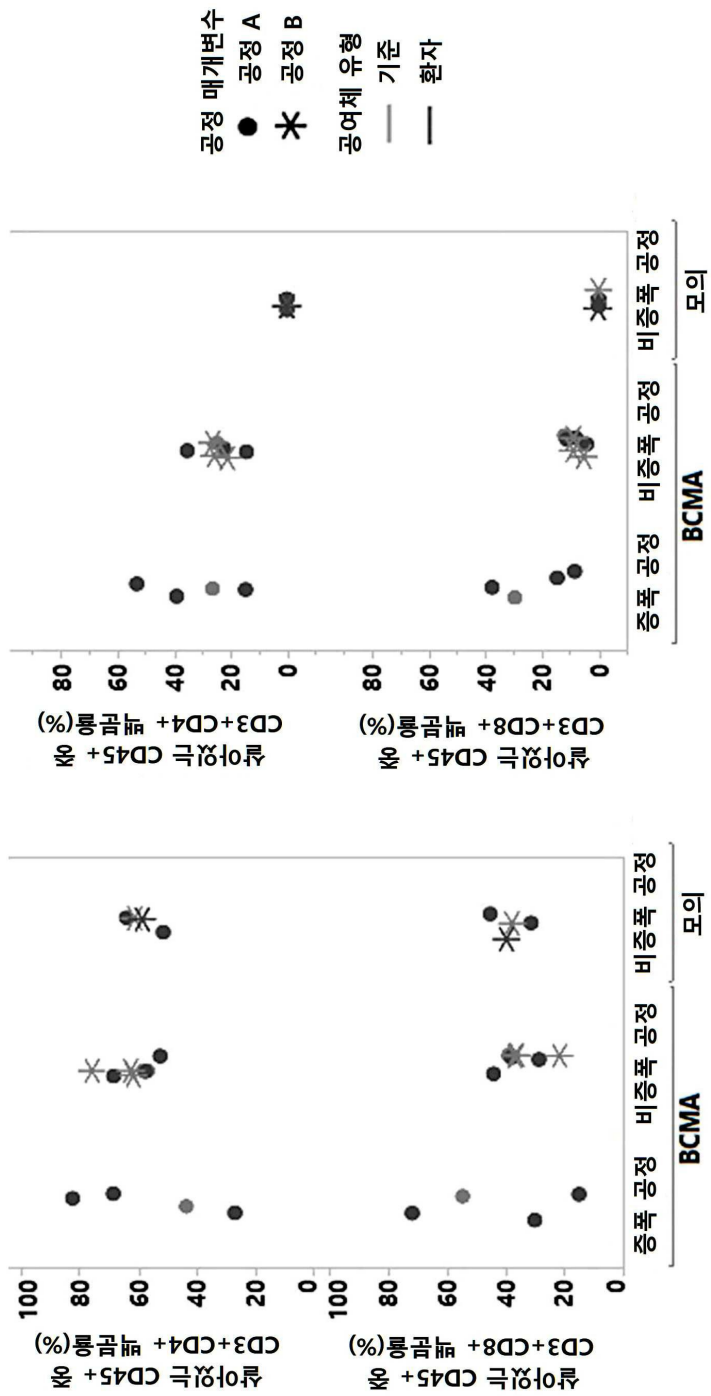
[1107]

도면

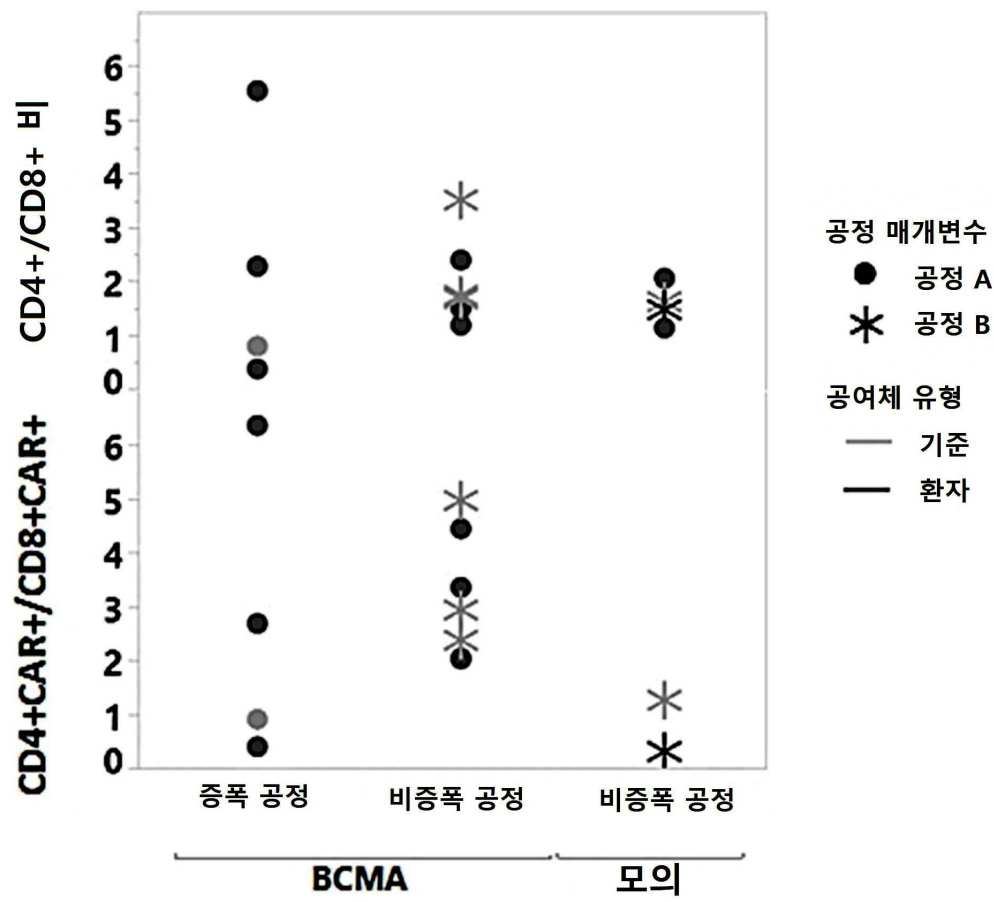
도면1



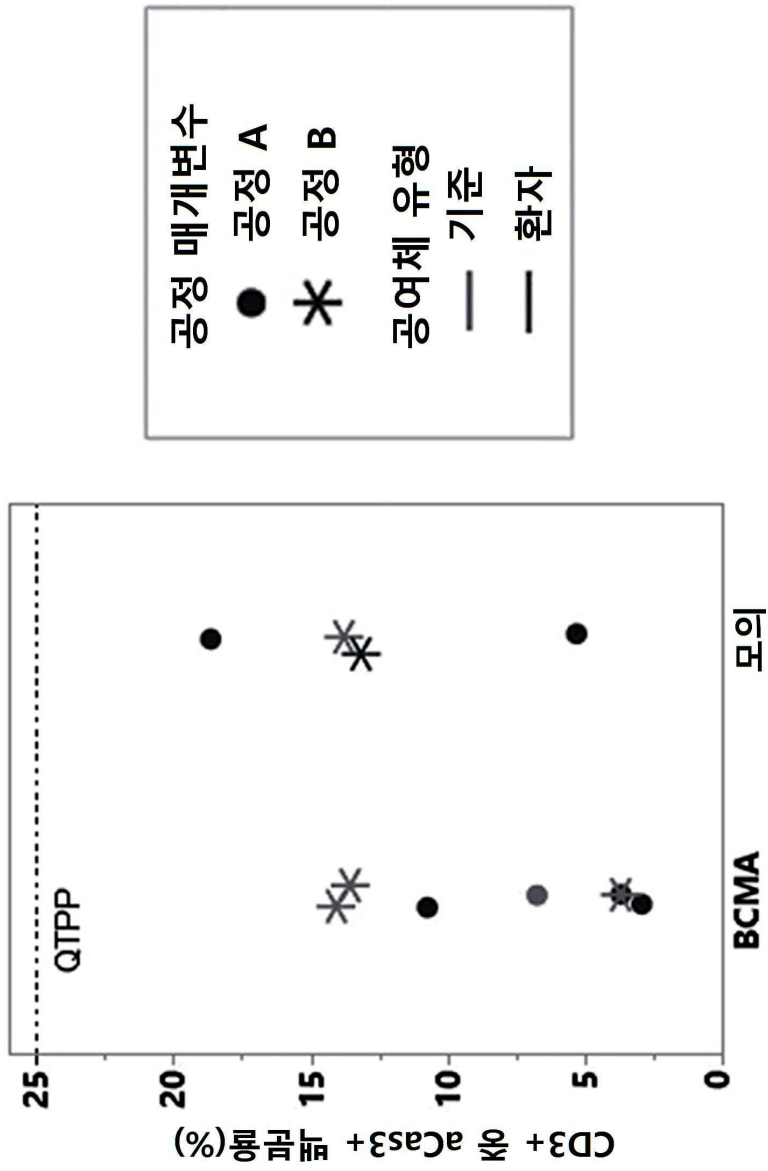
도면2



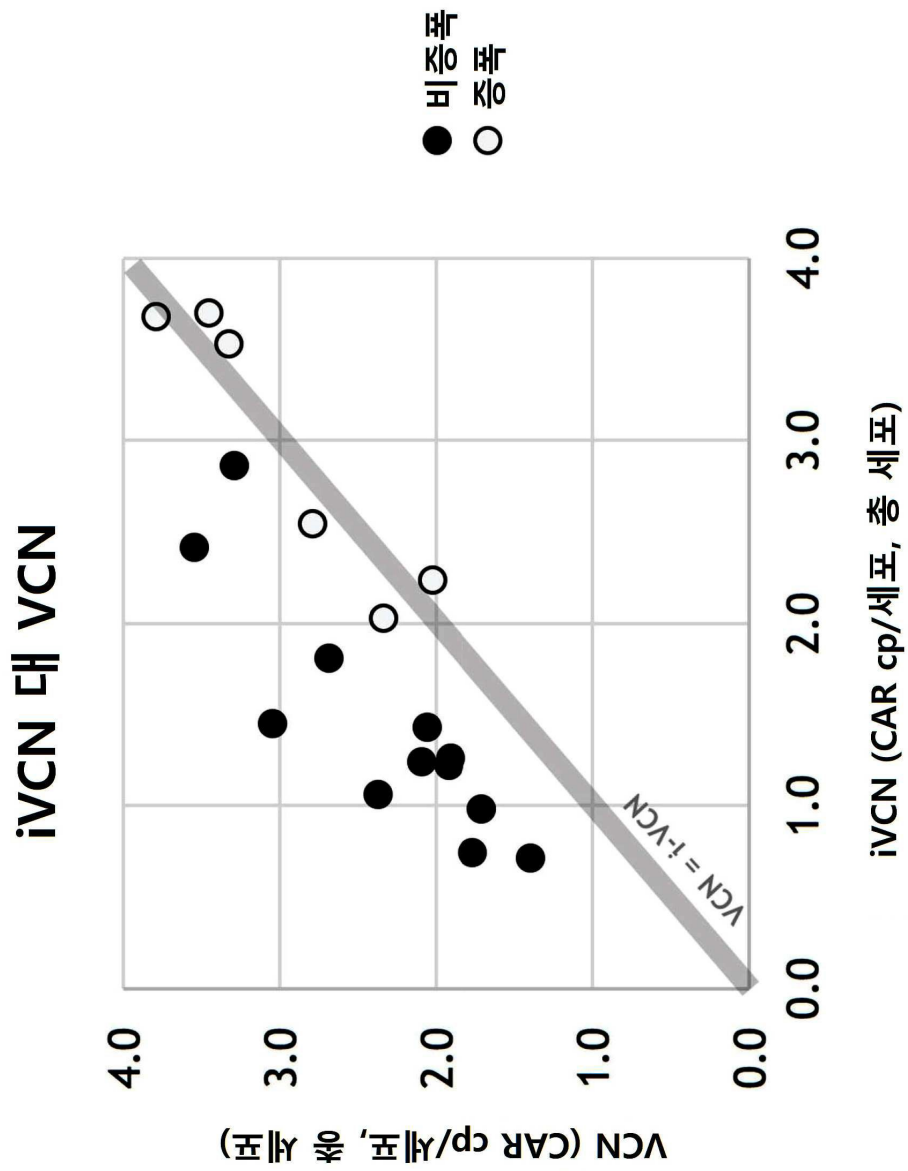
도면3



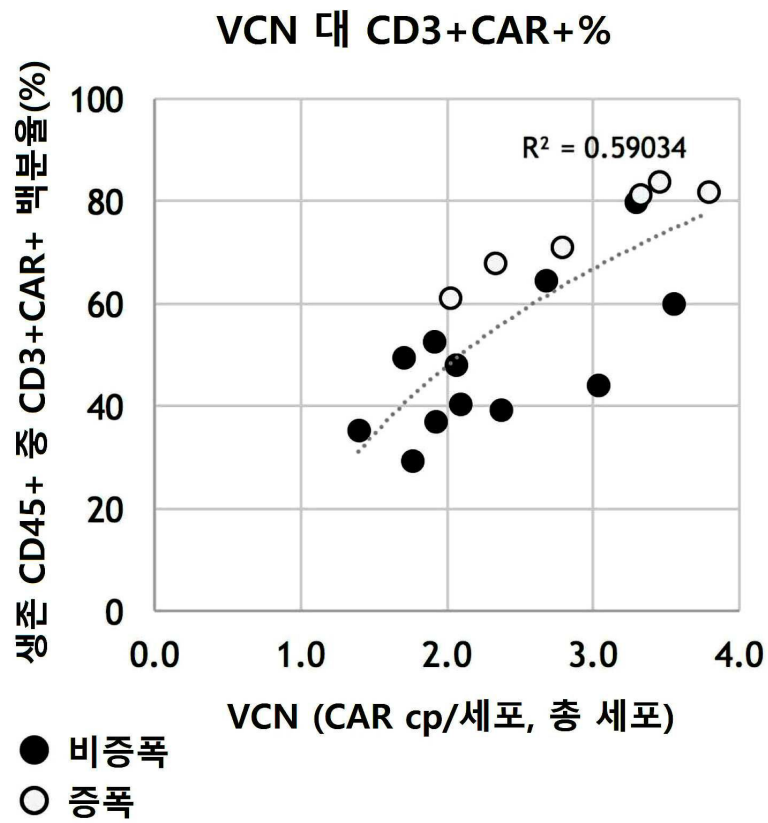
도면4



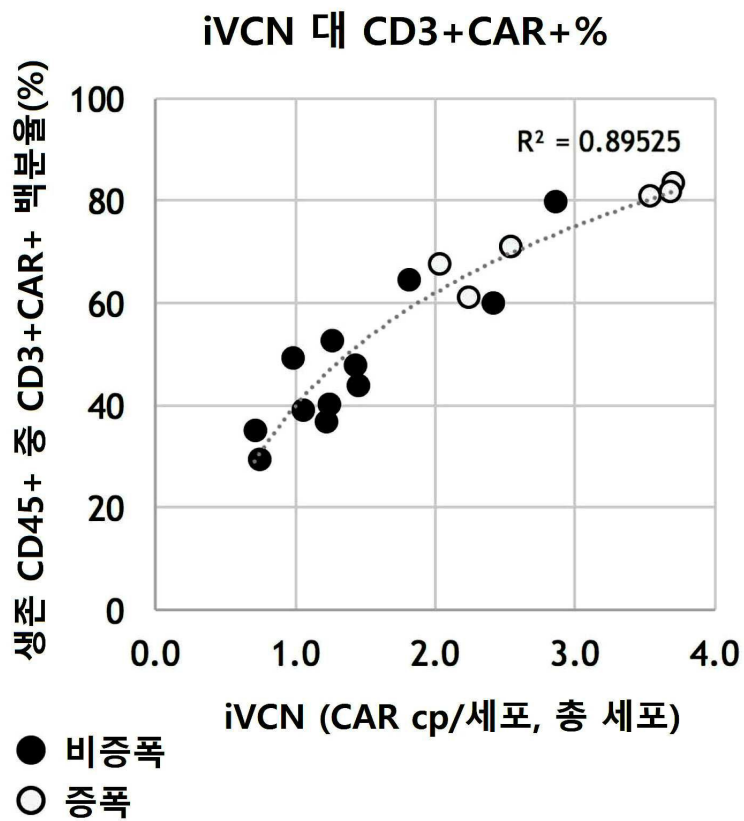
도면5a



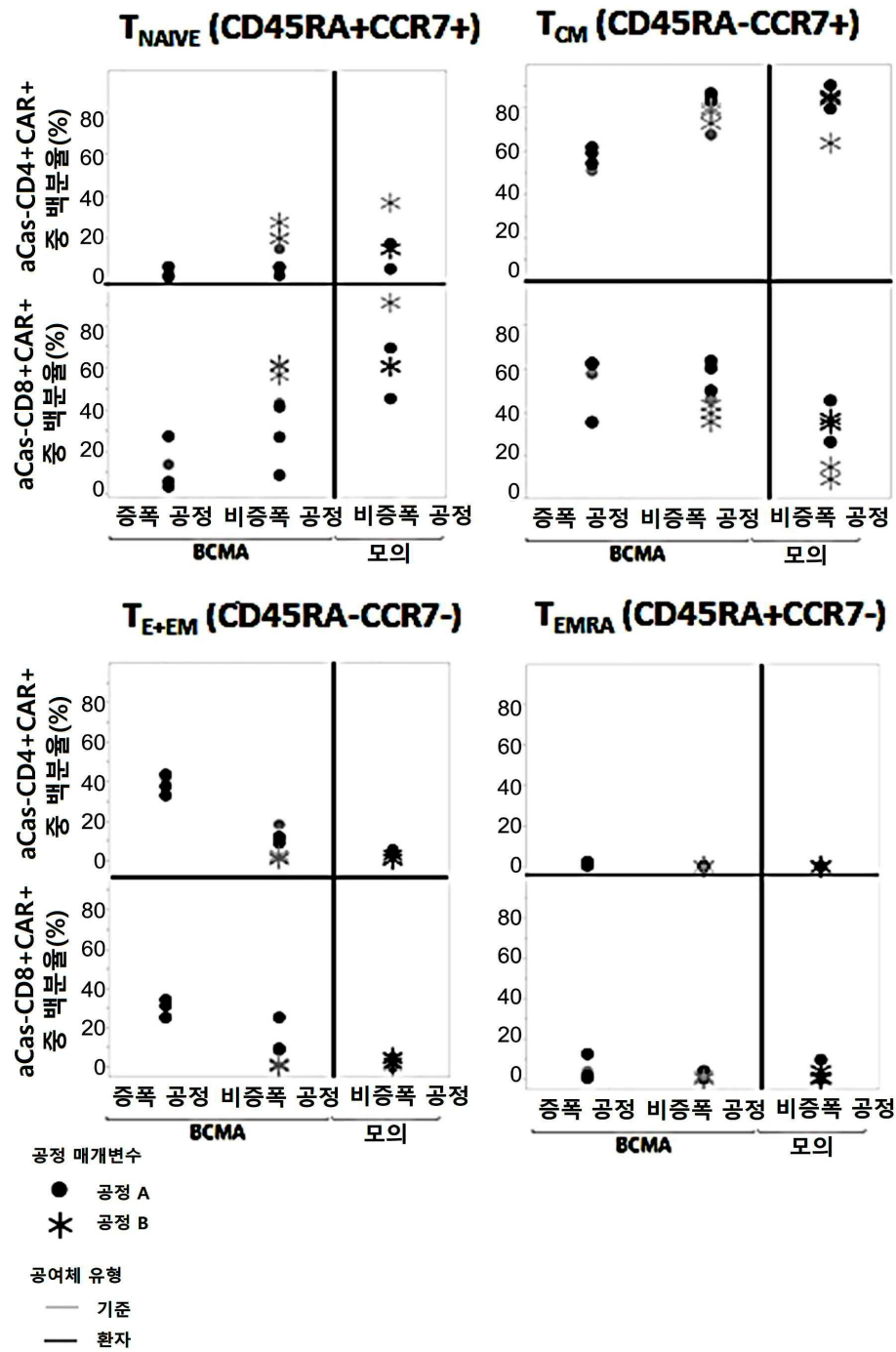
도면5b



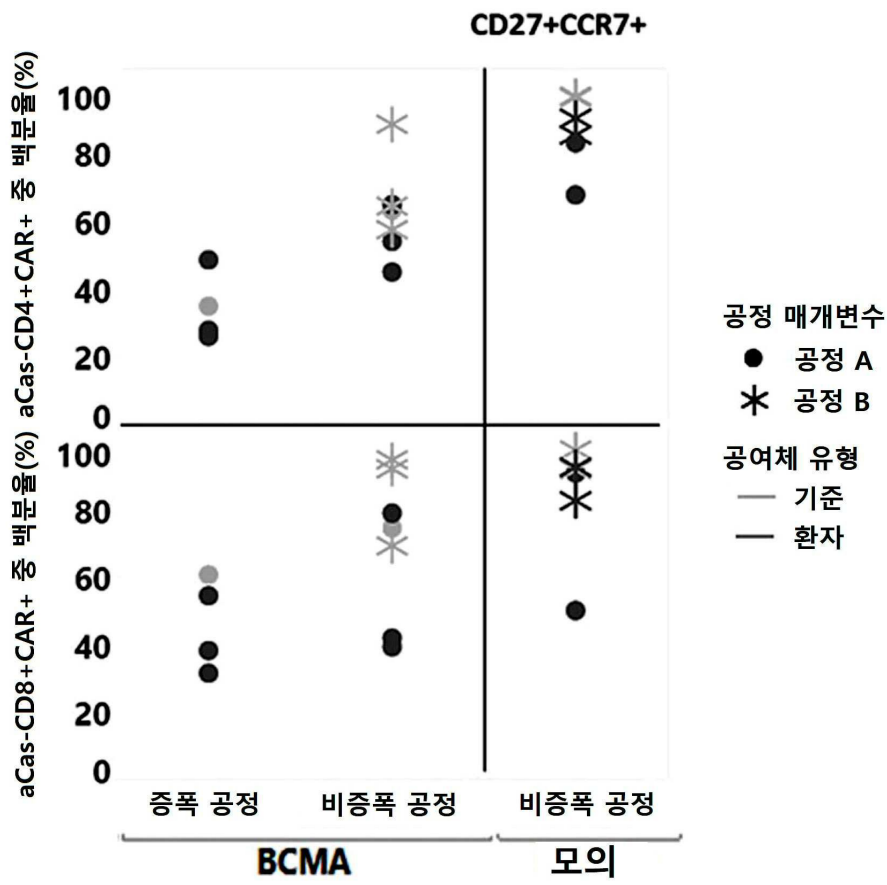
도면5c



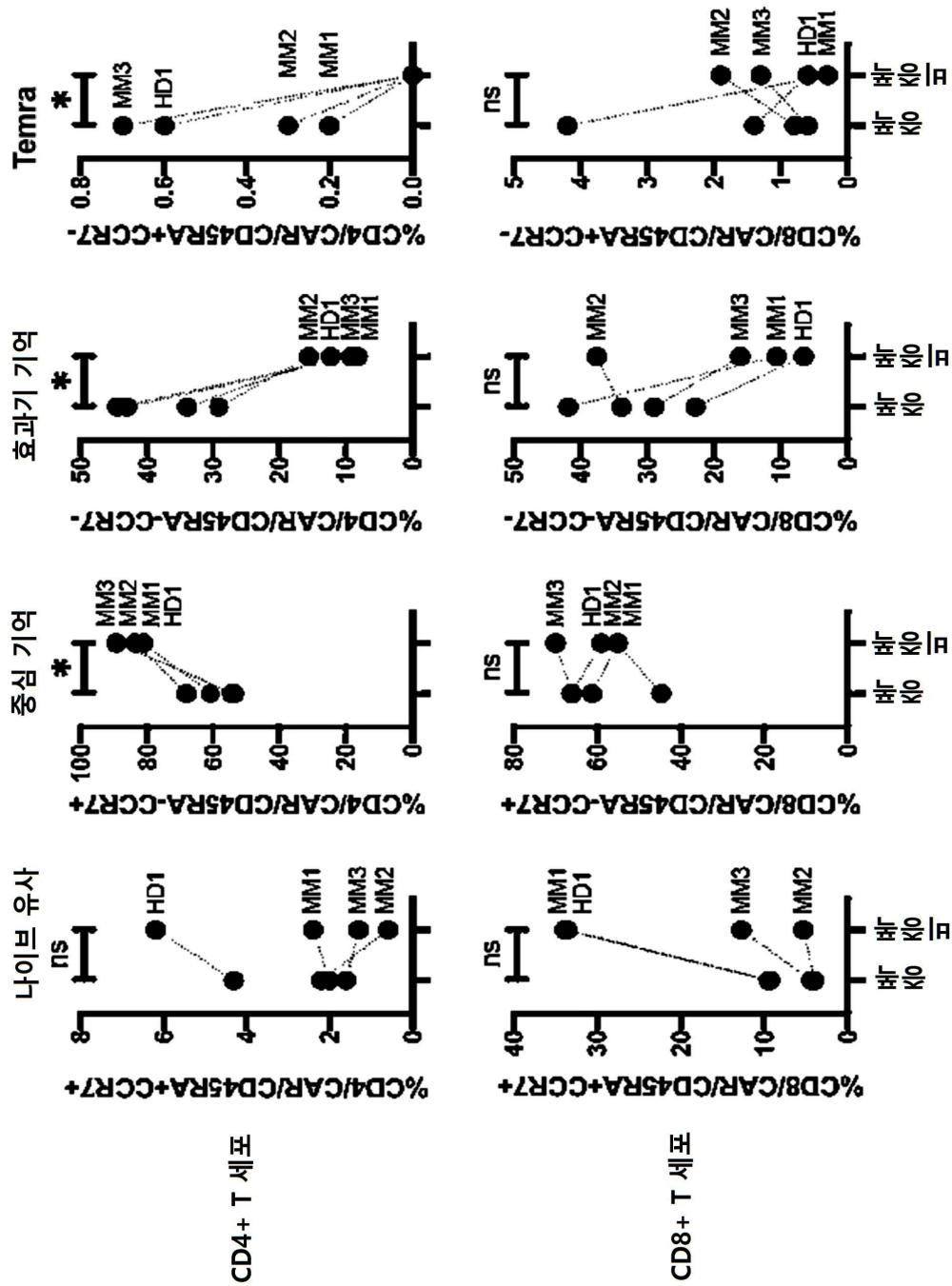
도면6a



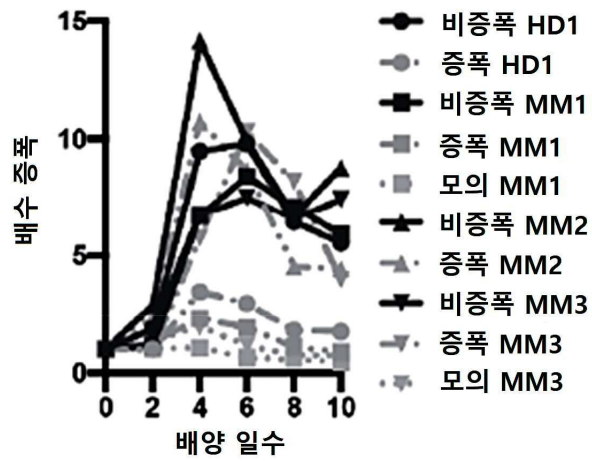
도면6b



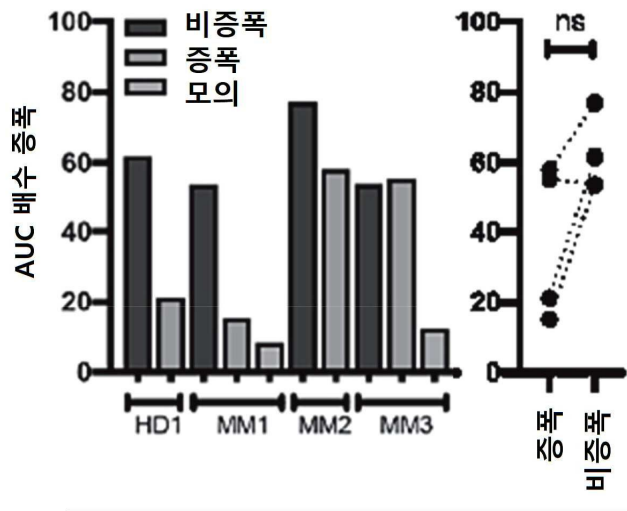
도면7



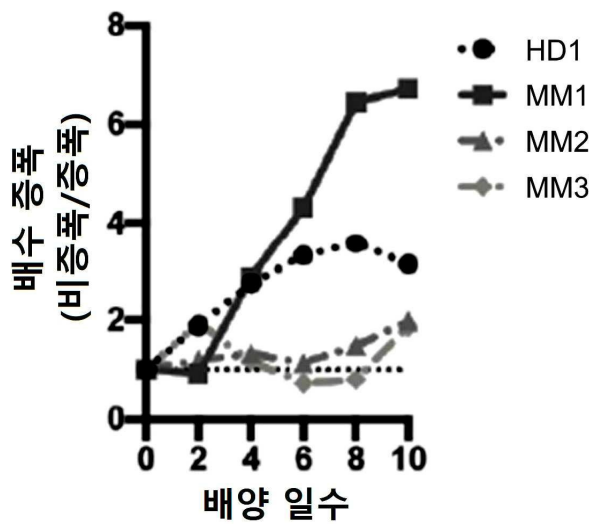
도면8a



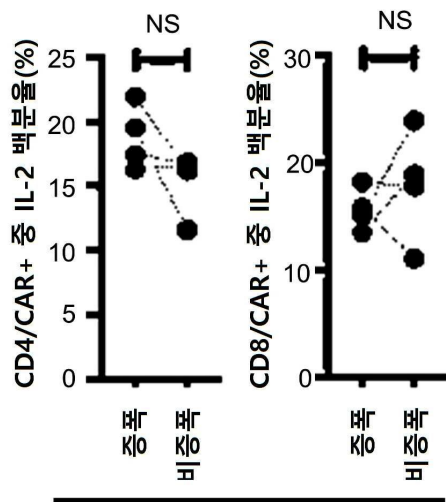
도면8b



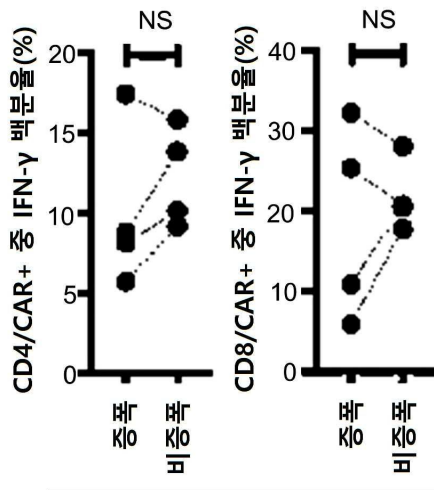
도면8c



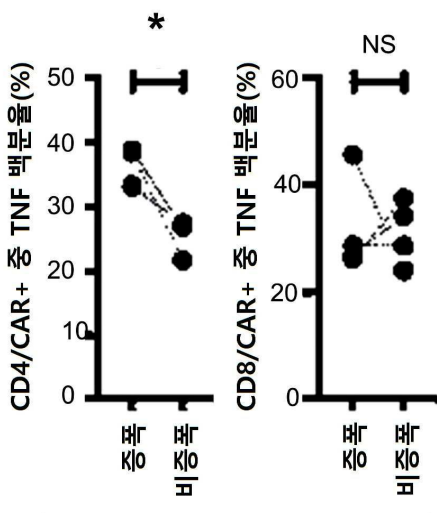
도면9a



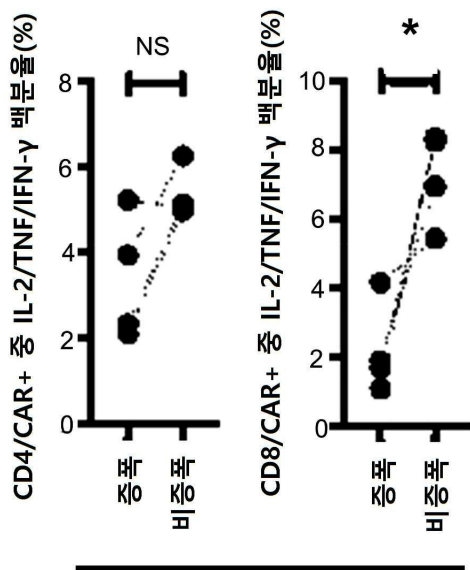
도면9b



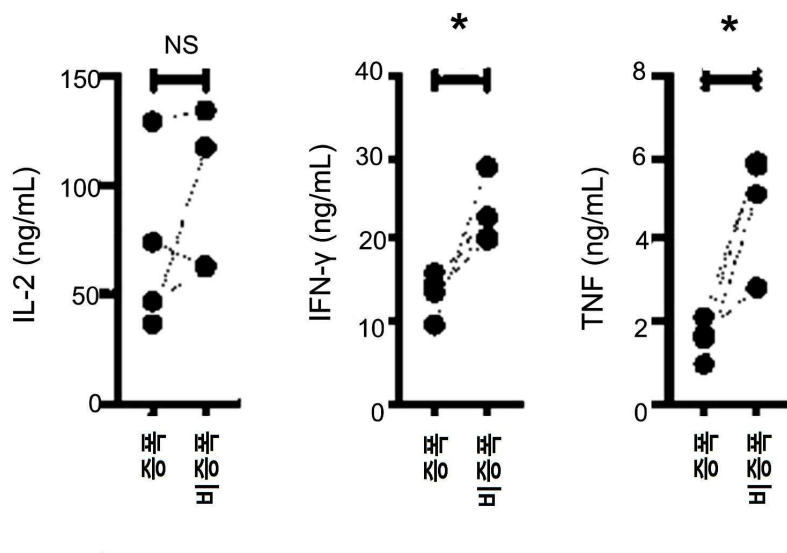
도면9c



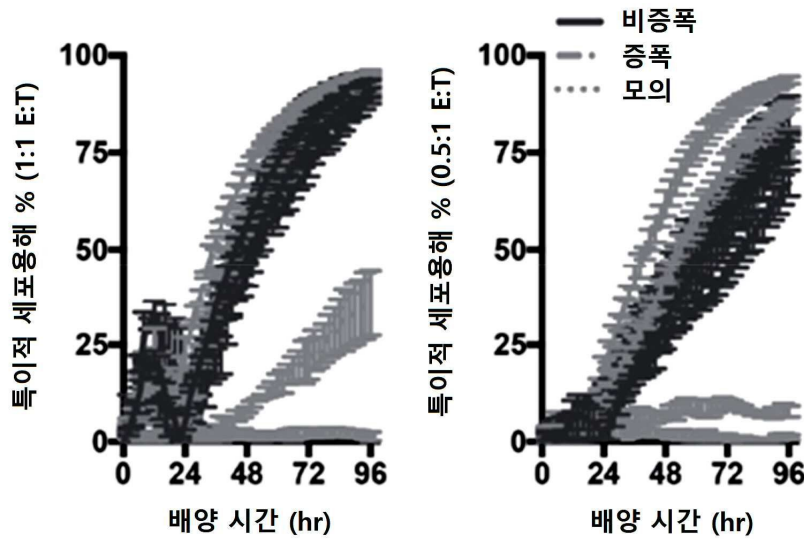
도면9d



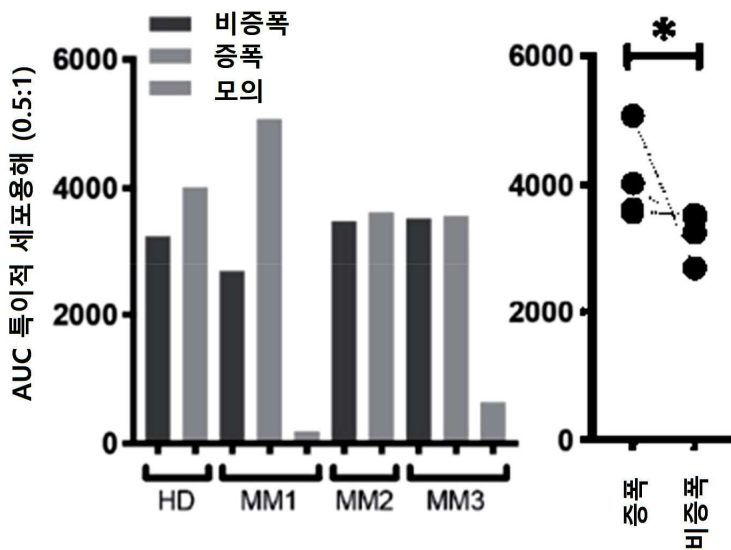
도면9e



도면10a

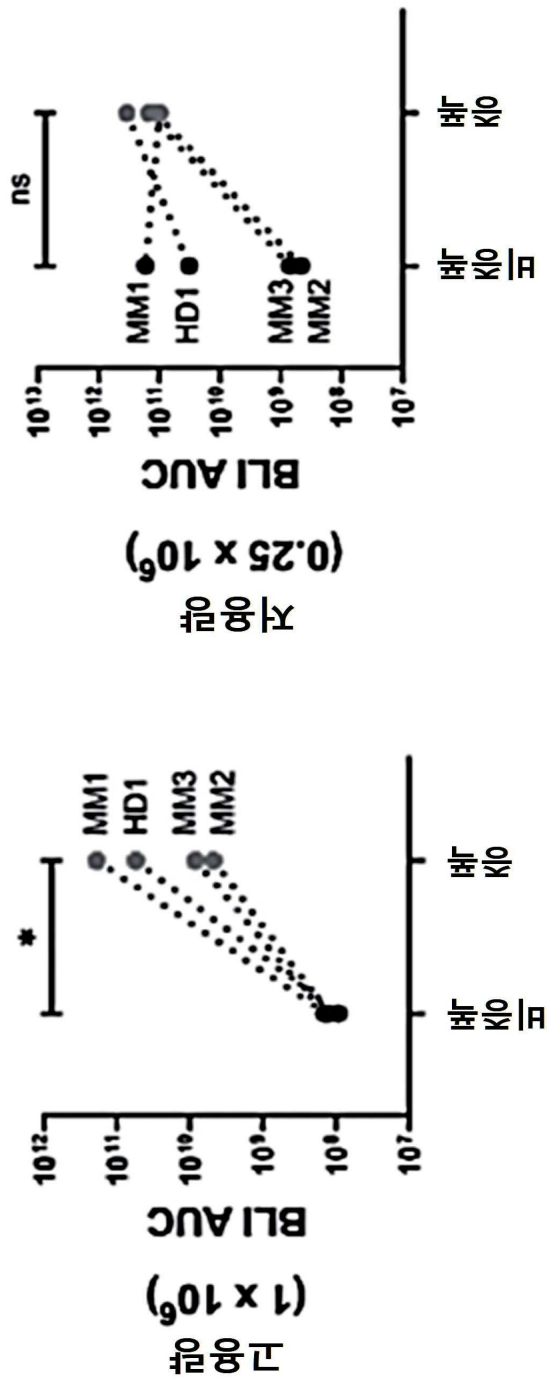


도면10b



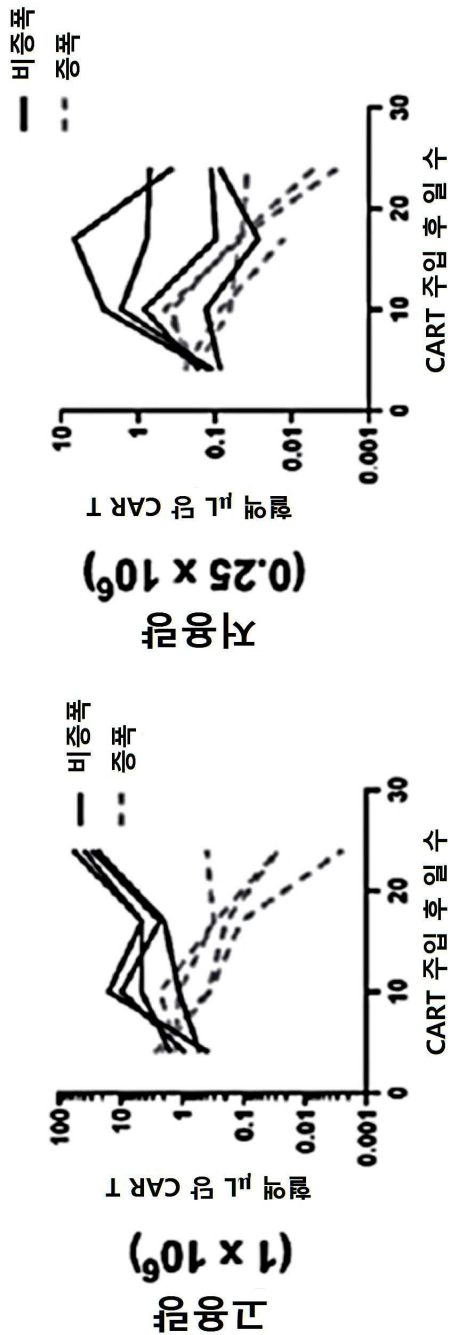
도면11b

양양대조군

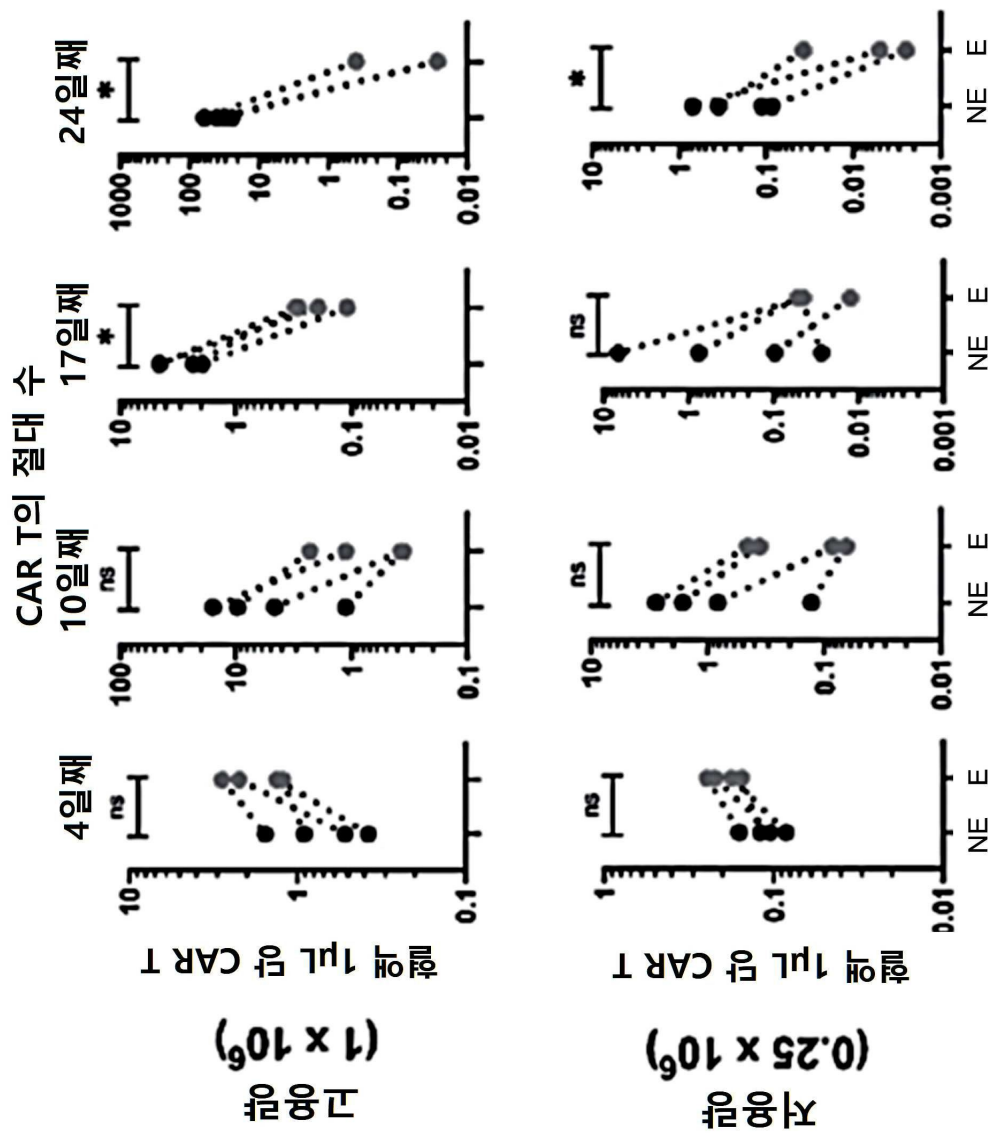


도면12a

CAR T 동역학



도면12b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Juno Therapeutics, Inc.

<120> BCMA-DIRECTED CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR

T CELL COMPOSITIONS AND METHODS AND USES THEREOF

<130> 735042023540

<140> Not yet assigned

<141> Concurrently herewith

<150> US 62/975,731

<151> 2020-02-12

<160> 283

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> (4GS)3 linker

<400> 1

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

1 5 10 15

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 3GS linker

<400> 2

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 3

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4-1BB/CD3 zeta predicted splice acceptor site

<400> 3

gctgagagtc aagttttcca ggtccgccga cgctccagcc t

41

<210> 4

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4-1BB-derived intracellular co-signaling sequence

<400> 4

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

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

<210> 5

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4-1BB-derived intracellular co-signaling sequence

<400> 5

aagcggggga gaaagaaact gctgtatatt ttcaaacagc cctttatgag acctgtgcag 60
actacccagg aggaagacgg atgcagctgt aggtttcccg aggaagagga aggaggctgt 120

gagctg 126

<210> 6

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4-1BB-derived intracellular co-signaling sequence

<400> 6

aagcggggca gaaagaagct gctctacatc ttcaagcagc ccttcacgc gcccgtgcag 60
accacacaag aggaagatgg ctgctcctgc agattcccg aggaagaaga aggcggctgc 120

gagctg 126

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4GS linker

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 8

<211> 684

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Alternative CO/SSE spacer

<400> 8

gaatctaagt acggaccgcc ttgtcctcct tgcctcctc ctctgttgc cggaccttcc 60
gtgttctctgt ttcttcacaa gcctaaggac acctgatga tcagcaggac cctgaagtg 120
acctgcgtgg tggatgatgt gtccaagag gatcccgagg tgcagttcaa ctggatatgt 180
gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc aagcctagag aggaacagtt ccagagcacc 240
tacagagtgg tgcctgtct gacagtgtg caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac 300

aagtgaagg tgtccaacaa gggcctgcct agcagcatcg agaaaacat ctccaaggcc 360
aagggccagc caagagagcc ccaggtttac aactgcctc caagccaaga ggaaatgacc 420
aagaatcagg tgccttgac atgcctggc aagggttct accctccga tatcgccgtg 480
gaatgggaga gcaatggcca gcctgagaac aactacaaga ccacacctcc tgtgctggac 540
agcgacggca gtttcttct gtatataga ctaccgtgg ataatcaag atggcaagag 600
ggcaactgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggcctgc acaaccacta caccagaaa 660
agcctgagcc tgtctctggg caag 684

<210> 9

<211> 1959

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 9

gaggtgcagc tggatggagtc cggaggaggc ctggtgaagc caggaggctc cctgaggctg 60
tcttgcgcag ccagcggtt cacttttagc gactactata tgcctggat cagacaggca 120
cctggcaagg gcctggagtg ggtgagctac atcagctcct ctggctccac aatctactat 180
gccgactctg tgaagggccg gtttaccatc agcagagata acgccaagaa ttccctgtat 240

ctgcagatga acagccctgag ggccgaggac acagccgtgt actattgcgc caaggtggac 300
ggcgattaca ccgaggatta ttggggccag ggcacactgg tgaccgtgag ctccggcggc 360

ggcggctctg gaggaggagg cagcggcgga ggaggctccc agtctgccct gacacagcca 420
gccagcgtgt ccggctctcc cggacagtcc atcacaatct cttgtaccgg ctctagctcc 480
gacgtgggca agtacaacct ggtgtcctgg tatcagcagc cccctggcaa ggcccctaag 540
ctgatcatct acgatgtgaa caagaggcca tctggcgtga gcaatcgctt cagcggctcc 600
aagtctggca ataccgccac actgaccatc agcggcctgc agggcgacga tgaggcagat 660
tactattgtt ctagctacgg cggcagcaga tcctacgtgt tcggcacagg caccaaggtg 720
accgtgctgg aatctaagta cggaccgcct tgcctcctt gtcccgtcc tcctgttgcc 780
ggaccttcg tgitcctgtt tcctccaaag cctaaggaca ccctgatgat cagcaggacc 840

cctgaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg tccaagagg atcccaggt gcagttcaac 900
tggtatgtgg acggcgtgga agtgcacac gccaagacca agcctagaga ggaacagtcc 960
cagagcacct acagagtgtt gtccgtgctg acagtgtgc accaggattg gctgaacggc 1020
aaagagtaca agtgcaaggt gtccaacaag ggcctgccta gcagcatcga gaaaaccatc 1080
tccaaggcca agggccagcc aagagagccc caggtttaca cactgcctcc aagccaagag 1140
gaaatgacca agaatcaggt gtccctgaca tgctgtgta agggcttcta cccctccgat 1200
atgcctgtgg aatgggagag caatggccag cctgagaaca actacaagac cacacctcct 1260
gtgctggaca gcgacggcag tttcttctg tatagtagac tcaccgtgga taaatcaaga 1320

tggcaagagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggcctgca caaccactac 1380
accagaaaa gcctgagcct gtctctgggc aagatgttct ggggtgctctg ggtcgttgcc 1440
ggagtgtcgg cctgttacag cctgtgtgtt accgtggcct tcattcatctt ttgggtcaag 1500
cggggcagaa agaagctgct ctacatcttc aagcagccct tcattgcggc cgtgcagacc 1560
acacaagagg aagatggctg ctccctgcaga ttccccgagg aagaagaagg cggctgcgag 1620
ctgagagtga agttcagcag atccgccgac gctccagcct atcagcagg ccaaaaccag 1680
ctgtacaacg agctgaacct ggggagaaga gaagagtacg acgtgctgga taagcggaga 1740
ggcagagatc ctgaaatggg cggcaagccc agacggaaga atcctcaaga gggcctgtat 1800

aatgagctgc agaaagacaa gatggccgag gcctacagcg agatcggaat gaaggcgag 1860
cgcagaagag gcaagggaca cgatggactg taccagggcc tgagcaccgc caccaaggat 1920
acctatgacg cactgcacat gcaggccctg ccacctaga 1959

<210> 10

<211> 1950

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 10

gaggtgcagc tgggtgcagag cggaggaggc ctggtgcagc ctggcaggtc cctgcgcctg 60
tcttgaccg ccagcggctt cacatttggc gactatgcc a tgccttggtt caagcaggca 120
ccaggcaagg gcctggagtg ggtgggcttt atccgctcta aggcctacgg cggcaccaca 180

gagtatgccg ccagcgtgaa gggccgggtt accatcagcc gggacgactc taagagcatc 240
gcctacctgc agatgaactc tctgaagacc gaggacacag ccgtgtacta ttgcgcagca 300
tggagcgccc caaccgatta ttggggccag ggcaccctgg tgacagttag ctccggcggc 360
ggcggctctg gaggaggagg aagcggagga ggaggatccg acatccagat gacacagtcc 420
cctgcctttc tgtccgcctc tgtgggcgat agggtgaccg tgacatgtcg cgcctcccag 480
ggcatctcta actacctggc ctgggtatcag cagaagcccc gcaatgcccc tcggctgctg 540
atctacagcg cctccacct gcagagcgga gtgccctccc ggttcagagg aaccggctat 600
ggcacagagt tttctctgac catcgacagc ctgcagccag aggatttcgc cacatactat 660

tgtcagcagt cttacaccag ccggcagaca tttggccccg gcacaagact ggatatcaag 720
gagtctaaat acggaccgcc ttgtctcct tgtcccgtc ctctgttgc cggaccttc 780
gtgttctgt ttcctcaaa gcctaaggac accctgatga tcagcaggac ccctgaagtg 840
acctgcgtgg tgggtgatgt gtccaagag gatcccagg tgacgttcaa ctggtatgtg 900
gacggcgtgg aagtgcaca cgccaagacc aagcctagag aggaacagtt ccagagcacc 960
tacagagtgg tgtccgtgct gacagtgtg caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac 1020
aagtgaagg tgtccaaca gggcctgcct agcagcatcg agaaaacat ctccaaggcc 1080
aagggccagc caagagagcc ccaggtttac aactgcctc caagccaaga ggaaatgacc 1140

aagaatcagg tgtccctgac atgcctggtc aagggttctt accctccga tatcgccgtg 1200
gaatgggaga gcaatggcca gcctgagaac aactacaaga ccacacctcc tgtgctggac 1260
agcgacggca gtttcttct gtatagtaga ctaccgtgg ataatcaag atggcaagag 1320
ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta caccagaaa 1380
agcctgagcc tgtctctggg caagatgttc tgggtgctcg tggctgttgg cggagtgtg 1440
gcctgttaca gcctgtggt taccgtggcc ttcacatct tttgggtcaa gggggcaga 1500
aagaagctgc tctacatctt caagcagccc ttcatgcggc ccgtgcagac cacacaagag 1560

gaagatggct gctcctgcag attccccgag gaagaagaag gcggctgcga gctgagagtg 1620

aagttcagca gatccgccga cgctccagcc tatcagcagg gccaaaacca gctgtacaac 1680

gagctgaacc tggggagaag agaagagtac gacgtgctgg ataagcggag aggcagagat 1740

cctgaaatgg gcggcaagcc cagacggaag aatcctcaag agggcctgta taatgagctg 1800

cagaaagaca agatggccga ggcctacagc gagatcggaa tgaaggcgca gcgcagaaga 1860

ggcaagggac acgatggact gtaccagggc ctgagcacccg ccaccaagga tacctatgac 1920

gcactgcaca tgcaggccct gccacctaga 1950

<210> 11

<211> 1953

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223

> anti-BCMA CAR

<400> 11

gaggtgcagc tgggtggagtc cggaggaggc ctggtgaagc caggaggctc tctgaggctg 60

agctgcgcag cctccggtt caccctttct gactactata tgagctggat caggcaggca 120

ccaggcaagg gcctggagtg ggtgtcttac atcagctcct ctggcagcac aatctactat 180

gccgactccg tgaaggcgag gtaccacatc tctcgcgata acgccaagaa tagcctgtat 240

ctgcagatga actccctcgc ggccgaggat acagccgtgt actattgcgc caaggtggac 300

ggccccctt cttttgatat ctggggccag ggcacaatgg tgaccgtgag ctccggagga 360

ggaggatccg gcggaggagg ctctggcggc ggcggtctta gctatgtgct gaccagcca 420

ccatccgtgt ctgtggcacc tggacagaca gcaaggatca cctgtggagc aaacaatatc 480

ggcagcaagt ccgtgcactg gtaccagcag aagcctggcc agggcccaat gctggtgggtg 540

tatgacgatg acgatcggcc cagcggcatc cctgagagat tttctggcag caactccggc 600

aataccgcca cactgacat ctctggagtg gaggcaggcg acgaggcaga ttacttctgt 660

cacctgtggg accggagcag agatcactac gtgttcggca caggcaccac gctgaccgtg 720

ctggaatcta agtacggacc gccttgctct cttgttcccg ctctctctgt tgccggacct 780

tccgtgttcc tgtttctcc aaagcctaag gacacctga tgatcagcag gacctctgaa 840

gtgacctcgc tgggtggtgga tgtgtcccaa gaggatcccg aggtgcagtt caactggtat 900

gtggacggcg tggaagtgca caacgccaag accaagccta gagaggaaca gttccagagc 960

acctacagag tgggtgtccgt gctgacagtg ctgcaccagg attggctgaa cggcaagag 1020

tacaagtgca aggtgtccaa caaggcctg cctagcagca tcgagaaaac catctccaag 1080
 gccaggggcc agccaagaga gcccaggtt tacacactgc ctccaagcca agaggaaatg 1140
 accaagaatc aggtgtccct gacatgcctg gtcaagggtt tctaccctc cgatatcgcc 1200
 gtggaatggg agagcaatgg ccagcctgag aacaactaca agaccacacc tcctgtgctg 1260
 gacagcgacg gcagtttctt cctgtatagt agactcaccg tggataaatc aagatggcaa 1320
 gagggcaacg tggtcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctacaccag 1380

aaaagcctga gcctgtctct gggcaagatg ttctgggtgc tcgtggctgt tggcggagtg 1440
 ctggcctgtt acagcctgtg ggttacctg gccttcatca tcttttgggt caagcggggc 1500
 agaaagaagc tgctctacat cttcaagcag cccttcatgc ggcccgtgca gaccacacaa 1560
 gaggaagatg gctgctcctg cagattcccc gaggaagaag aaggcggctg cgagctgaga 1620
 gtgaagtcca gcagatccg cgacgtcca gcctatcagc agggccaaaa ccagctgtac 1680
 aacgagctga acctggggag aagagaagag tacgacgtgc tggataagcg gagaggcaga 1740
 gatcctgaaa tgggcggcaa gccagacgg aagaatctc aagaggcct gtataatgag 1800
 ctgcagaaag acaagatggc cgaggcctac agcgagatcg gaatgaaggg cgagcgaga 1860

agaggcaagg gacacgatgg actgtaccag ggctgagca ccgccaccaa ggatacctat 1920
 gacgcactgc acatgcaggc cctgccacct aga 1953

<210> 12

<211> 1974

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 12

agctatgagc tgacacagcc tccaagcgc tctggcacac ctggacagcg agtgacaatg 60
 agctgtagcg gcaccagcag caacatcggc agccacagcg tgaactggtg tcagcagctg 120
 cctggcacag ccctaaact gctgatctac accaacaacc agcggcctag cggcgtgccc 180
 gatagatttt ctggcagcaa gagcggcaca agcggcagcc tggctatttc tggactgcag 240

agcaggagcg aggcgacta ttattgtgcc gcctgggacg gctctctgaa cggccttgtt 300
 tttggcggag gcaccaagct gacagtgtg ggatctagag gtggcggagg atctggcggc 360
 ggaggaagcg gaggcggcgg atctcttgaa atggctgaag tgcagctggt gcagtctggc 420
 gccgaagtga agaagcctgg cgagagcctg aagatcagct gcaaaggcag cggctacagc 480
 ttcaccagct actggatcgg ctgggtccga cagatgcctg gcaaaggcct tgagtggatg 540

ggcatcatct acccggcgga cagcgacacc agatacagcc ctagctttca ggccacgtg 600
 accatcagcg ccgacaagtc tatcagcacc gcctacctgc agtgggccag cctgaaggcc 660
 tctgacaccg ccatgtacta ctgcgccaga tactctggca gcttcgacaa ttggggccag 720

ggcacactgg tcaccgtgtc cagcgagtct aaatacggac cgccttgctc tccttgctcc 780
 gctcctcctg ttgccggacc ttccgtgttc ctgtttcttc caaagcctaa ggacaccctg 840
 atgatcagca ggacccctga agtgacctgc gtggtggtgg atgtgtccca agaggatccc 900
 gaggtgcagt tcaactggta tgtggacggc gtggaagtgc acaacgcaa gaccaagcct 960
 agagaggaac agttccagag cacctacaga gtggtgtccg tgctgacagt gctgcaccag 1020
 gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc aaggtgtcca acaaggcct gcctagcagc 1080
 atcgagaaaa ccatctccaa ggccaagggc cagccaagag agccccaggt ttacacactg 1140
 cctccaagcc aagaggaat gaccaagaat caggtgtccc tgacatgcct ggtcaagggc 1200

ttctaccctt ccgatatgcg cgtggaatgg gagagcaatg gccagcctga gaacaactac 1260
 aagaccacac ctctgtgtct ggacagcgac ggacagttct tcctgtatag tagactcacc 1320
 gtggataaat caagatggca agagggcaac gtgttcagct gcagcgtgat gcacgagcc 1380
 ctgcacaacc actacacca gaaaagcctg agcctgtctc tgggcaagat gttctgggtg 1440
 ctctgtgtcg ttggcggagt gctggcctgt tacagcctgc tggttaccgt ggccttcac 1500
 atcttttggg tcaagcgggg cagaaagaag ctgctctaca tcttcaagca gcccttcag 1560
 cggcccgtgc agaccacaca agaggaagat ggctgtctct gcagattccc cgaggaagaa 1620
 gaaggcggct gcgagctgag agtgaagttc agcagatccg ccgacgtcc agcctatcag 1680

cagggccaaa accagctgta caacgagctg aacctgggga gaagagaaga gtacgacgtg 1740
 ctggataagc ggagaggcag agatcctgaa atgggcggca agcccagacg gaagaatcct 1800
 caagagggcc tgtataatga gctgcagaaa gacaagatgg ccgaggccta cagcgagatc 1860
 ggaatgaagg gcgagcgag aagaggcaag ggacacgatg gactgtacca ggcctgagc 1920
 accgccacca aggataccta tgacgcactg cacatgcagg ccctgccacc taga 1974

<210> 13

<211> 1962

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 13

cagtctgccc tgacacagcc tgccagcggt agtgctagtc ccggacagtc tatcgccatc 60

agctgtaccg gcaccagctc tgacgttggc tggatatcagc agcacccctgg caaggccctt 120

aagctgatga tctacgagga cagcaagagg ccagcggcg tgtccaatag attcagcggc 180

agcaagagcg gcaacaccgc cagcctgaca attagcggac tgcaggccga ggacgaggcc 240

gattactact gcagcagcaa caccgggtcc agcacactgg tttttggcgg aggcaccaag 300

ctgacagtgc tgggatctag aggtggcggg ggatctggcg gcggaggaag cggaggcggc 360

ggatctcttg aaatggctga agtgacgtg gtgcagctg gcgccgagat gaagaaacct 420

ggcgctctc tgaagctgag ctgcaaggcc agcggctaca cttcatcga ctactacgtg 480

tactggatgc ggaggcccc tggacaggga ctggaatcta tgggtggat caacccaat 540

agcggcggca ccaattacgc ccagaaattc cagggcagag tgaccatgac cagagacacc 600

agcatcagca ccgcctacat ggaactgagc cggctgagat ccgacgacac cgccatgtac 660

tactgcgcca gatctcagcg cgacggctac atggattatt ggggccaggg aacctggctc 720

accgtgtcca gcgagtctaa atacggaccg cttgtctctc cttgtccgc tcctctgtt 780

gccggacctt ccgtgttctt gtttctctca aagcctaagg acacctgat gatcagcagg 840

accttgaag tgacctgcgt ggtgtggat gtgtccaag aggatccga ggtgcagttc 900

aactggtatg tggacggcgt ggaagtgcac aacccaaga ccaagcctag agaggaacag 960

ttccagagca cctacagagt ggtgtccgtg ctgacagtgc tgcaccagga ttggtgaac 1020

ggcaaagagt acaagtgcaa ggtgtccaac aaggcctgc ctagcagcat cgagaaaacc 1080

atctccaagg ccaagggcca gccaaagagag cccaggttt acacactgcc tccaagccaa 1140

gaggaaatga ccaagaatca ggtgtccctg acatgcctgg tcaagggtt ctacctctc 1200

gatatgccg tggaatggga gagcaatggc cagcctgaga acaactaaa gaccacacct 1260

cctgtgctgg acagcgacgg cagtttcttc ctgtatagta gactcaccgt ggataaatca 1320

agatggcaag agggcaactg gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1380

tacaccaga aaagcctgag cctgtctctg ggcaagatgt tctgggtgct cgtggctgtt 1440

ggcggagtgc tggcctgtta cagcctgtg gttaccgtgg cttcatcat cttttgggtc 1500

aagcggggca gaaagaagct gctctacatc ttcaagcagc cttcatgcg gcccgtgcag 1560

accacacaag aggaagatgg ctgctcctgc agattcccc aggaagaaga aggcggctgc 1620

gagctgagag tgaagttcag cagatccgcc gacgtccag cctatcagca ggccaaaac 1680

cagctgtaca acgagctgaa cctggggaga agagaagagt acgacgtgct ggataagcgg 1740

agaggcagag atcctgaaat gggcggcaag ccagacgga agaactctca agaggcctg 1800

tataatgagc tgcagaaaga caagatggcc gaggcctaca gcgagatcgg aatgaagggc 1860

gagcgcagaa gaggcaaggg acacgatgga ctgtaccagg gcctgagcac cgccaccaag 1920
gatacctatg agcactgca catgcaggcc ctgccaccta ga 1962

<210> 14

<211> 1959

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 14

cagtctgccc tgacacagcc tgccagcggt agtgctagtc ccggacagtc tatcgccatc 60
agctgtaccg gcaccagctc tgacgttggc tggatcagc agcacctgg caaggccct 120
aagctgatga tctacagga cagcaagagg cccagcggcg tgtccaatag attcagcggc 180
agcaagagcg gcaacaccgc cagcctgaca attagcggac tgcaggccga ggacgaggcc 240
gattactact gcagcagcaa caccgggtcc agcacactgg ttttggcgg aggcaccaag 300
ctgacagtgc tgggatctag aggtggcggg ggatctggcg gcggaggaag cggaggcggc 360

ggatctcttg aaatggctga agtgacgtg gtgcagtctg gcgccgagat gaagaaacct 420
ggcgctctc tgaagctgag ctgcaaggcc agcggctaca cttcatcga ctactacgtg 480
tactggatgc ggcaggcccc tggacaggga ctgcaatcta tgggctggat caacccaat 540
agcggcggca ccaattacgc ccagaaattc cagggcagag tgaccatgac cagagacacc 600
agcatcagca ccgcctacat ggaactgagc cggctgagat ccgacgacac cgccatgtac 660
tactgcgcca gatctcagc gcagggctac atggattatt ggggccaggg aacctggtc 720
accgtgtcca gcgagtctaa atacggaccg cttgtctc cttgtcccgc tctctctgtt 780
gccggacctt ccgtgttctt gtttctcca aagcctaagg acacctgat gatcagcagg 840

acctctgaag tgacctgcgt ggtggtggat gtgtccaag aggatcccga ggtgcagttc 900
aactggtatg tggacggcgt ggaagtgcac aacgccaaga ccaagcctag agaggaacag 960
ttccagagca cctacagagt ggtgtccgtg ctgacagtgc tgcaccagga ttggctgaac 1020
ggcaaagagt acaagtgcaa ggtgtccaac aaggcctgc ctagcagcat cgagaaaacc 1080
atctccaagg ccaagggcca gccaaagag cccaggttt acacactgcc tccaagccaa 1140
gaggaaatga ccaagaatca ggtgtccctg acatgcctgg tcaaggcctt ctaccctcc 1200
gatatcgccg tggaatggga gagcaatggc cagcctgaga acaactacaa gaccacacct 1260
cctgtgctgg acagcgacgg cagtttcttc ctgtatagta gactcaccgt ggataaatca 1320

agatggcaag agggcaacgt gttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct gcacaaccac 1380
 tacaccaga aaagcctgag cctgtctctg ggcaagatgt tctgggtgct cgtggtcgtt 1440
 ggccggagtgc tggcctgtta cagcctgctg gttaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 1500
 aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 1560
 ggcccccccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 1620
 tccagagtga agttcagcag atccgccgac gctccagcct atcagcaggg ccaaaaccag 1680
 ctgtacaacg agctgaacct ggggagaaga gaagagtacg acgtgctgga taagcggaga 1740
 ggccagagatc ctgaaatggg cggcaagccc agacggaaga atcctcaaga gggcctgtat 1800

aatgagctgc agaaagacaa gatggccgag gcctacagcg agatcggaat gaaggcgag 1860
 cgcagaagag gcaagggaca cgatggactg taccagggcc tgagcaccgc caccaaggat 1920
 acctatgacg cactgcacat gcaggccctg ccacctaga 1959

<210> 15

<211> 653

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Val Asp Gly Asp Tyr Thr Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser
 130 135 140
 Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser

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

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

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

 340 345 350
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

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

 405 410 415
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 435 440 445
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 450 455 460
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Met Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly

 465 470 475 480
 Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile
 485 490 495
 Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 500 505 510
 Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
 515 520 525
 Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys

 530 535 540
 Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
 545 550 555 560
 Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
 565 570 575
 Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 580 585 590
 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

 595 600 605

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
610 615 620
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
625 630 635 640
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
645 650
<210> 16
<211> 650
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> anti-BCMA CAR
<400> 16
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Asp Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Phe Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ile
65 70 75 80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Ala Trp Ser Ala Pro Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
130 135 140
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gln

145 150 155 160
 Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala
 165 170 175
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
 180 185 190

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

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

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

 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 405 410 415
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
 420 425 430
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 435 440 445

 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 450 455 460
 Ser Leu Gly Lys Met Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu
 465 470 475 480
 Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
 485 490 495
 Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
 500 505 510

 Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
 515 520 525
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
 530 535 540
 Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
 545 550 555 560
 Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
 565 570 575

 Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
 580 585 590
 Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
 595 600 605
 Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
 610 615 620
 Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 625 630 635 640

 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

645

650

<210> 17

<211> 651

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35

40

45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Val Asp Gly Pro Pro Ser Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

100

105

110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Ala Asn Asn Ile

145 150 155 160

Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

165

170

175

Met Leu Val Val Tyr Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu

180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser
 195 200 205
 Gly Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys His Leu Trp Asp
 210 215 220
 Arg Ser Arg Asp His Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val
 225 230 235 240
 Leu Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
 245 250 255
 Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 260 265 270
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 275 280 285
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 290 295 300
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser
 305 310 315 320
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 325 330 335
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 340 345 350
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 355 360 365
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 370 375 380
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 385 390 395 400
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 405 410 415
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 420 425 430
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

435 440 445
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 450 455 460
 Leu Ser Leu Gly Lys Met Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
 465 470 475 480
 Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp

 485 490 495
 Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
 500 505 510
 Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
 515 520 525
 Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
 530 535 540
 Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr

 545 550 555 560
 Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
 565 570 575
 Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
 580 585 590
 Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
 595 600 605
 Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly

 610 615 620
 His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
 625 630 635 640
 Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 645 650

 <210> 18
 <211> 658
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 18

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

Arg Val Thr Met Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser His
20 25 30

Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Gly Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
100 105 110

Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
130 135 140

Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser
145 150 155 160

Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr
180 185 190

Ser Pro Ser Phe Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
210 215 220

Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Ser Gly Ser Phe Asp Asn Trp Gly Gln

225 230 235 240
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
 245 250 255
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 260 265 270

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

 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 340 345 350
 Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 355 360 365
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
 370 375 380
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 385 390 395 400

 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 405 410 415
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 420 425 430
 Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
 435 440 445
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 450 455 460

 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Met Phe Trp Val
 465 470 475 480

Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
485 490 495
Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
500 505 510
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
515 520 525

Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
530 535 540
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
545 550 555 560
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
565 570 575
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
580 585 590

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
595 600 605
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
610 615 620
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
625 630 635 640
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
645 650 655

Pro Arg

<210> 19

<211> 654

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 19

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

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

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

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

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

 Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
260 265 270

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
275 280 285

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
290 295 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
305 310 315 320

Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
340 345 350

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
420 425 430

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Met Phe Trp Val Leu Val Val Val
465 470 475 480

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
485 490 495

Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys

500 505 510
 Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 515 520 525
 Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 530 535 540
 Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 545 550 555 560

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 565 570 575
 Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 580 585 590
 Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 595 600 605
 Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 610 615 620

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 625 630 635 640
 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 645 650

<210> 20

<211> 653

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-BCMA CAR

<400> 20

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Ser Ile Ala Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Trp Tyr

20 25 30
 Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Asp Ser
 35 40 45

Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
 50 55 60
 Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala
 65 70 75 80
 Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Asn Thr Arg Ser Ser Thr Leu Val Phe Gly
 85 90 95
 Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala Glu Val
 115 120 125
 Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Met Lys Lys Pro Gly Ala Ser Leu
 130 135 140
 Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr Tyr Val
 145 150 155 160
 Tyr Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Ser Met Gly Trp
 165 170 175
 Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly
 180 185 190
 Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 195 200 205
 Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg
 210 215 220
 Ser Gln Arg Asp Gly Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 225 230 235 240
 Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255
 Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 260 265 270
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 275 280 285
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val

290 295 300
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 305 310 315 320
 Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 325 330 335
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly

 340 345 350
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
 370 375 380
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

 405 410 415
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 420 425 430
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 435 440 445
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Met Phe Trp Val Leu Val Val Val

 465 470 475 480
 Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 485 490 495
 Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr
 500 505 510
 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln
 515 520 525
 Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys

 530 535 540

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
 545 550 555 560
 Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
 565 570 575
 Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 580 585 590
 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

595 600 605
 Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
 610 615 620
 Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
 625 630 635 640
 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 645 650

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> BCMA epitope

<400> 21

Tyr Phe Asp Ser Leu

1 5

<210> 22

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 CDR-L1

<400> 22

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

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 CDR-L2

<400> 23

Asp Val Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 CDR-L3

<400> 24

Ser Ser Tyr Gly Gly Ser Arg Ser Tyr Val

1 5 10

<210> 25

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 predicted splice acceptor site

<400> 25

ggctgattat tattgtagct catatggagg tagtaggtct t 41

<210> 26

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 predicted splice acceptor site

<400> 26

ctactacatg agctggatcc gccaggctcc agggaagggg c 41

<210> 27

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 predicted splice acceptor site (0/SSE)

<400> 27

ctactatatg tcctggatca gacaggcacc tggcaagggc c 41

<210> 28

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 predicted splice acceptor site (0/SSE)

<400> 28

ggcagattac tattgttcta gctacggcgg cagcagatcc t 41

<210> 29

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 scFv

<400>

> 29

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Val Asp Gly Asp Tyr Thr Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

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

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

<210> 30

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 scFv

<400> 30

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag ccctctggatt caccttcagt gactactaca tgagctggat cgcagggt 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatatc attagtagta gtggtagtag catatactac 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctcaactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaagtagac 300
ggagactaca cagaggacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctccaggtgga 360
ggcgggttcag gcggagggtg ctctggcggt ggccggtcgc agtctgcct gactcagcct 420

gcctccgtgt ctgggtctcc tggacagtgc atcactatct cctgcactgg aagcagcagt 480
gatgttgga aatataatct tgtctcctgg taccaacagc cccagggcaa agcccccaag 540
ctcataattt atgacgtcaa taagcggccc tcagggtttt ctaatcgctt ctctggctcc 600
aagtctggca acacggccac cctgacaatc tctgggtccc aggtgacga cgaggtgat 660
tattattgta gtcatatgg aggtagtagg tcttatgtct tcggaactgg gaccaaggtg 720
accgtccta 729

<210> 31

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 scFv

<400> 31

gaggtgcagc tgggtggagtc cggaggaggc ctggtgaagc caggaggctc cctgaggctg 60
tcttgcgcag ccagcggctt cacctttagc gactactata tgtcctggat cagacaggca 120
cctggcaagg gcctggagtg ggtgagctac atcagctcct ctggctccac aatctactat 180
gccgactctg tgaagggccg gtttaccatc agcagagata acgccaagaa ttccctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag ggccgaggac acagccgtgt actattgcgc caaggtggac 300
ggcgattaca ccgaggatta ttggggccag ggcacactgg tgaccgtgag ctccggcggc 360
ggcggctctg gaggaggagg cagcggcgga ggaggctccc agtctgcct gacacagcca 420

gccagcgtgt ccggctctcc cggacagtcc atcacaatct cttgtaccgg ctctagctcc 480
gacgtgggca agtacaacct ggtgtcctgg taccagcagc cccctggcaa ggcccctaag 540
ctgatcatct acgatgtgaa caagaggcca tctggcgtga gcaatcgctt cagcggctcc 600
aagtctggca ataccgccac actgaccatc agcggcctgc agggcgacga tgaggcagat 660
tactattgtt ctactacgg cggcagcaga tcctacgtgt tcggcacagg caccaaggtg 720
accgtgctg 729

<210> 32

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 VH Chain

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Val Asp Gly Asp Tyr Thr Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 33

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 VL Chain

<400> 33

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asp Val Gly Lys Tyr

20 25 30

Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Ile Ile Tyr Asp Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

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

<210> 34

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23, -26 CDR-H1 (aa) Kabat numbering

<400> 34

Asp Tyr Tyr Met Ser

1 5

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23, -26 CDR-H2 (aa) Kabat numbering

<400> 35

Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-23 CDR-H3 (aa)

<400> 36

Val Asp Gly Asp Tyr Thr Glu Asp Tyr

1 5

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 CDR-H1 (aa) Kabat numbering

<400> 37

Asp Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 38

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 CDR-H2 (aa) Kabat numbering

<400> 38

Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 CDR-H3 (aa)

<400> 39

Trp Ser Ala Pro Thr Asp Tyr

1 5

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 CDR-L1 (aa)

<400> 40

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 CDR-L2 (aa)

<400> 41

Ser Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 CDR-L3 (aa)

<400> 42

Gln Gln Ser Tyr Thr Ser Arg Gln Thr

1 5

<210> 43

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 predicted splice acceptor site
 <400> 43
 ctatgccatg tcctggttca ggcaggcacc aggcaagggc c 41
 <210> 44
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> BCMA-25 predicted splice acceptor site
 <400> 44
 gtccgcctct gtgggcgata gggtagaccgt gacatgtcgc g 41
 <210> 45
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> BCMA-25 predicted splice acceptor site
 <400> 45
 gtgggcttta tccgctctaa ggcctacggc ggcaccacag a 41
 <210> 46
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> BCMA-25 predicted splice acceptor site
 <400> 46
 gtgacatgtc gcgcctccca gggcatctct aactacctgg c 41
 <210> 47
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> BCMA-25 predicted splice acceptor site

<400> 47

tacagcgct ccaccctgca gagcggagtg ccctcccggt t 41

<210> 48

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 predicted splice acceptor site (O/SSE)

<400> 48

ctatgccatg tcctggttca agcaggcacc aggcaagggc c 41

<210> 49

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 scFv sequence

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu
130 135 140

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gln
145 150 155 160

Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala
165 170 175

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
180 185 190

Ser Arg Phe Arg Gly Thr Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile
195 200 205

Asp Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser
210 215 220

Tyr Thr Ser Arg Gln Thr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Asp Ile Lys
225 230 235 240

<210> 50

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 scFv

<400> 50

gaggtgcagc tgggtgcagag cggaggaggc ctggtgcagc ctggcaggtc cctgcgcctg 60
tcttgaccgc ccagcggctt cacatttggc gactatgcca tgtcctggtt caggcaggca 120
ccaggcaagg gcctggagtg ggtgggcttt atccgctcta aggcctacgg cggcaccaca 180

gagtatgccg ccagcgtgaa gggccgggtt accatcagcc gggacgactc taagagcatc 240
gcctacctgc agatgaactc tctgaagacc gaggacacag ccgtgtacta ttgcgcagca 300
tggagcgcgc caaccgatta ttggggccag ggcaccctgg tgacagttag ctccggcggc 360
ggcggctctg gaggaggagg aagcggagga ggaggatccg acatccagat gacacagtcc 420
cctgcctttc tgtccgcctc tgtgggcgat agggtgaccg tgacatgtcg cgcctcccag 480
ggcatctcta actacctggc ctggtatcag cagaagcccc gcaatgcccc tcggtgtctg 540
atctacagcg cctccacct gcagagcggg gtgccctccc ggttcagagg aaccggctat 600

ggcacagagt ttctctgac catcgacagc ctgcagccag aggatttcgc cacatactat 660

tgtcagcagt cttacaccag ccggcagaca ttggccccg gcacaagact ggatatcaag 720

<210> 51

<211> 720

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 scFv (nt) (O/SSE)

<400> 51

gaggtgcagc tgggtgcagag cggaggaggc ctggtgcagc ctggcaggtc cctgcgcctg 60
tcttgcaccg ccagcggctt cacatttggc gactatgcc a tgtcctggtt caagcaggca 120
ccaggcaagg gcctggagtg ggtgggcttt atccgctcta aggcctacgg cggcaccaca 180
gagtatgccg ccagcgtgaa gggccggttc accatcagcc gggacgactc taagagcatc 240
gcctacctgc agatgaactc tctgaagacc gaggacacag ccgtgtacta ttgcgcagca 300

tggagcgcgc caaccgatta ttggggccag ggcaccctgg tgacagttag ctccggcggc 360
ggcggctctg gaggaggagg aagcggagga ggaggatccg acatccagat gacacagtcc 420
cctgcctttc tgtccgcctc tgtgggcgat aggggtgaccg tgacatgtcg cgcctcccag 480
ggcatctcta actacctggc ctggtatcag cagaagcccg gcaatgcccc tcggctgctg 540
atctacagcg cctccaccct gcagagcgga gtgccctccc ggttcagagg aaccggctat 600
ggcacagagt ttctctgac catcgacagc ctgcagccag aggatttcgc cacatactat 660
tgtcagcagt cttacaccag ccggcagaca ttggccccg gcacaagact ggatatcaag 720

<210> 52

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 VH chain

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ile
65 70 75 80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Ala Trp Ser Ala Pro Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 53

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-25 VL chain

<400> 53

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

100 105

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 CDR-H3

<400> 54

Val Asp Gly Pro Pro Ser Phe Asp Ile

1 5

<210> 55

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 CDR-L1

<400> 55

Gly Ala Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His

1 5 10

<210> 56

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 CDR-L2

<400> 56

Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 CDR-L3

<400> 57

His Leu Trp Asp Arg Ser Arg Asp His Tyr Val

1 5 10

<210> 58

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 scFv sequence

<400> 58

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Val Asp Gly Pro Pro Ser Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Ala Asn Asn Ile

145 150 155 160

Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

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

Arg Ser Arg Asp His Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val
225 230 235 240
Leu

<210> 59

<211> 723

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 scFv

<400> 59

gaggtgcagc tggtaggagtc cggaggaggc ctggtgaagc caggaggctc tctgaggctg 60
agctgcgcag cctccggtt cactttttct gactactata tgagctggat caggcaggca 120
ccaggcaagg gcctggagtg ggtgtcttac atcagctcct ctggcagcac aatctactat 180
gccgactccg tgaagggcag gttcaccatc tctcgcgata acgccaagaa tagcctgtat 240

ctgcagatga actccctgcg ggccgaggat acagccgtgt actattgcgc caaggtggac 300
ggccccctt cctttgatat ctggggccag ggcacaatgg tgaccgtgag ctccggagga 360
ggaggatccg gcggaggagg ctctggcggc ggcggtctta gctatgtgct gaccagcca 420
ccatccgtgt ctgtggcacc tggacagaca gcaaggatca cctgtggagc aaacaatatc 480
ggcagcaagt ccgtgcactg gtaccagcag aagcctggcc aggccccaat gctggtggtg 540
tatgacgatg acgatcgcc cagcggcatc cctgagagat tttctggcag caactccggc 600
aataccgcca cactgacat ctctggagtg gaggcaggcg acgaggcaga ttacttctgt 660
cacctgtggg accggagcag agatcactac gtgttcggca caggcaccaa gctgaccgtg 720

ctg

723

<210> 60

<211> 723

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 scFv (nt) (O/SSE)

<400> 60

gaggtgcagc tgggtggagtc cggaggaggc ctggtgaagc caggaggctc tctgaggctg 60
agctgcgcag cctccggctt cacttttct gactactata tgagctggat caggcaggca 120
ccaggcaagg gcctggagtg ggtgtcttac atcagctcct ctggcagcac aatctactat 180
gccgactcgc tgaagggcag gttcaccatc tctcgcgata acgccaagaa tagcctgtat 240
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggat acagccgtgt actattgcgc caaggtggac 300

ggccccctt cctttgatat ctggggccag ggcacaatgg tgaccgtgag ctccggagga 360
ggaggatccg gcggaggagg ctctggcggc ggcggctcta gctatgtgct gaccagcca 420
ccatccgtgt ctgtggcacc tggacagaca gcaaggatca cctgtggagc aaacaatata 480
ggcagcaagt ccgtgactg gtaccagcag aagcctggcc aggcccaat gctgggtggtg 540
tatgacgatg acgatcgcc cagcggcatc cctgagagat tttctggcag caactccggc 600
aataccgcca cactgacct ctctggagtg gaggcaggcg acgaggcaga ttacttctgt 660
cacctgtggg accggagcag agatcactac gtgttcggca caggcaccaa gctgaccgtg 720
ctg 723

<210> 61

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 VH Chain

<400> 61

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

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Lys Val Asp Gly Pro Pro Ser Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 62

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-26 VL Chain

<400> 62

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

1

5

10

15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Ala Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val

20

25

30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Met Leu Val Val Tyr

35

40

45

Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50

55

60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Ala Gly

65

70

75

80

Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys His Leu Trp Asp Arg Ser Arg Asp His

85

90

95

Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H1

<400> 63

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H1 (aa) - AbM numbering

<400> 64

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H1 (aa) - Chothia numbering

<400> 65

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

1 5

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H1 (aa) - Kabat numbering

<400> 66

Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 67

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H2 (aa)

<400> 67

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H2 (aa) - AbM numbering

<400> 68

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg

1 5 10

<210> 69

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H2 (aa) - Chothia numbering

<400> 69

Tyr Pro Gly Asp Ser Asp

1 5

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H2 (aa) - Kabat numbering

<400> 70

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H3 (aa)

<400> 71

Ala Arg Tyr Ser Gly Ser Phe Asp Asn

1 5

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-H3 (aa) - Kabat, Chothia, and AbM
numbering

<400> 72

Tyr Ser Gly Ser Phe Asp Asn

1 5

<210> 73

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-L1 (aa)

<400> 73

Ser Ser Asn Ile Gly Ser His Ser

1

5

<210> 74

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-L1 (aa) - Kabat, Chothia, and AbM
numbering

<400> 74

Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser His Ser Val Asn

1

5

10

<210> 75

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-L2 (aa)

<400> 75

Thr Asn Asn

1

<210> 76

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-L2 (aa) - Kabat, Chothia, and AbM

numbering

<400> 76

Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1

5

<210> 77

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 CDR-L3 (aa) - Kabat, Chothia, and AbM

numbering

<400> 77

Ala Ala Trp Asp Gly Ser Leu Asn Gly Leu Val

1 5 10

<210> 78

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 predicted splice acceptor site

<400> 78

ctggccatca gtggcctcca gtctgaggat gaggtgatt a 41

<210> 79

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 predicted splice acceptor site

<400> 79

agatacagcc cgtccttcca aggccacgtc accatctcag c 41

<210> 80

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 predicted splice acceptor site (O/SSE)

<400> 80

ctggctatatt ctggactgca gagcgaggac gaggccgact a 41

<210> 81

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 predicted splice acceptor site (0/SSE)

<400> 81

agatacagcc ctagctttca gggccacgtg accatcagcg c 41

<210> 82

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 scFv

<400> 82

tcctatgagc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatg 60
tcttgttctg gaaccagctc caacatcgga agtcactctg taaactggta ccagcagctc 120
ccaggaacgg ccccaaact cctcatctat actaataatc agcggccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tggcctccag 240
tctgaggatg aggttgatta ttactgtgca gcatgggatg gcagcctgaa tggcttggtg 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggttctagag gtggtgggtg tagcggcggc 360
ggcggctctg gtggtgggtg atccctcgag atggccgagg tgcagctggt gcagtctgga 420
gcagaggatga aaaagcccgg ggagtctctg aagatctcct gtaagggttc tggatacagc 480
tttaccagct actggatcgg ctgggtgcgc cagatgcccg ggaaaggcct ggagtggatg 540
gggatcatct atcctggtga ctctgatacc agatacagcc cgtccttcca aggccacgtc 600
accatctcag ctgacaagtc catcagcact gcctacctgc agtggagcag cctgaaggcc 660
tcggacaccg ccatgtatta ctgtgcgcgc tactctggtt ctttcgataa ctgggggtcaa 720
ggtactctgg tgaccgtctc ctca 744

<210> 83

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 scFv

<400> 83

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

245

<210> 84

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 scFv (nt) (O/SSE)

<400> 84

agctatgagc tgacacagcc tccaagcgcc tctggcacac ctggacagcg agtgacaatg 60
agctgtagcg gcaccagcag caacatcggc agccacagcg tgaactggta tcagcagctg 120
cctggcacag cccctaaact gctgatctac accaacaacc agcggcctag cggcgtgccc 180
gatagatttt ctggcagcaa gagcggcaca agcgccagcc tggctatttc tggactgcag 240
agcgaggacg aggccgacta ttattgtgcc gcctgggacg gctctctgaa cggccttgtt 300
tttggcggag gcaccaagct gacagtgtg ggatctagag gtggcggagg atctggcggc 360

ggaggaagcg gaggcggcgg atctcttgaa atggctgaag tgcagctggt gcagtctggc 420
gccgaagtga agaagcctgg cgagagcctg aagatcagct gcaaaggcag cggctacagc 480
ttcaccagct actggatcgg ctgggtccga cagatgcctg gcaaaggcct tgagtggatg 540
ggcatcatct acccggcgca cagcgacacc agatacagcc ctacttttca gggccacgtg 600
accatcagcg ccgacaagtc tatcagcacc gcctacctgc agtgggtccag cctgaaggcc 660
tctgacaccg ccatgtacta ctgcgccaga tactctggca gcttcgacaa ttggggccag 720
ggcacactgg tcaccgtgtc cagc 744

<210> 85

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 VH chain

<400> 85

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

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Ser Gly Ser Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 86

<211> 350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 VH chain

<400> 86

gaggtgcagc tggatgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
 tcctgtaagg gttctggata cagctttacc agctactgga tcggctgggt gcgccagatg 120
 cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc atctatcctg gtgactctga taccagatac 180
 agccccgtcct tccaaggcca cgtcaccatc tcagctgaca agtccatcag cactgcctac 240
 ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccatgt attactgtgc gcgtactct 300
 gggttctttcg ataactgggg tcaaggtaact ctggtgaccg tctcctcagc 350

<210> 87

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 VH chain (nt) (O/SSE)

<400> 87

gaagtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaagc ctggcgagag cctgaagatc 60
agctgcaaag gcagcggcta cagcttcacc agctactgga tcggctgggt ccgacagatg 120
cctggcaaag gccttgagtg gatgggcac atctaccccg gcgacagcga caccagatac 180
agccctagct ttcagggcca cgtgaccatc agcgccgaca agtctatcag caccgcctac 240
ctgcagtggc ccagcctgaa ggcctctgac accgccatgt actactgcgc cagatactct 300
ggcagcttcg acaattgggg ccagggcaca ctggtcaccg tgtccagc 348

<210> 88

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 VL chain

<400> 88

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Met Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser His

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Gly Ser Leu

85 90 95

Asn Gly Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 89

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 VL chain

<400> 89

```
tctatgagc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatg 60
tcttgttctg gaaccagctc caacatcgga agtcactctg taaactggta ccagcagctc 120
ccaggaacgg cccccaact cctcatctat actaataatc agcgccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tggcctccag 240
tctgaggatg aggtctgatta ttactgtgca gcatgggatg gcagcctgaa tggcttggtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta ggt 333
```

<210> 90

<211> 333

<212> DNA

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-52 VL chain (nt) (O/SSE)

<400> 90

```
agctatgagc tgacacagcc tccaagcgcc tctggcacac ctggacagcg agtgacaatg 60
agctgtagcg gcaccagcag caacatcggc agccacagcg tgaactggta tcagcagctg 120
cctggcacag ccctaaact gctgatctac accaacaacc agcgccctag cggcgtgccc 180
gatagatttt ctggcagcaa gagcggcaca agcggcagcc tggctatttc tggactgcag 240
agcgaggacg aggccgacta ttattgtgcc gcctgggacg gctctctgaa cggccttggt 300
tttggcggag gcaccaagct gacagtgtg gga 333
```

<210> 91

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> BCMA-52-scFV-mFc BCMA binding epitope 1

<400> 91

Gln Asn Glu Tyr Phe

1 5

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> BCMA-52-scFV-mFc BCMA binding epitope 2

<400> 92

Cys Ile Pro Cys Gln Leu

1 5

<210> 93

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> BCMA-52-scFV-mFc BCMA binding epitope 3

<400> 93

Cys Gln Arg Tyr Cys

1 5

<210>

> 94

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H1 (aa)

<400> 94

Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H1 (aa) - AbM numbering

<400> 95

Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr Tyr Val Tyr

1 5 10

<210> 96

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H1 (aa) - Chothia numbering

<400> 96

Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr

1 5

<210> 97

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H1 (aa) - Kabat numbering

<400> 97

Asp Tyr Tyr Val Tyr

1 5

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H2 (aa)

<400> 98

Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr

1 5

<210> 99

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H2 (aa) - AbM numbering

<400> 99

Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

1 5 10

<210> 100

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H2 (aa) - Chothia numbering

<400> 100

Asn Pro Asn Ser Gly Gly

1 5

<210> 101

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H2 (aa) - Kabat numbering

<400> 101

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

1 5 10 15

Gly

<210> 102

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H3 (aa)

<400> 102

Ala Arg Ser Gln Arg Asp Gly Tyr Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-H3 (aa) - Kabat, Chothia, and AbM

numbering

<400> 103

Ser Gln Arg Asp Gly Tyr Met Asp Tyr

1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220>

<223> BCMA-55 CDR-L1 (aa)

<400> 104

Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp

1 5

<210> 105

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-L1 (aa) - Kabat, Chothia, and AbM

numbering

<400> 105

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly

1 5

<210> 106

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 CDR-L2 (aa)

<400> 106

Glu Asp Ser

1
 <210> 107
 <211> 7
 <212>
 > PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> BCMA-55 CDR-L2 (aa) - Kabat, Chothia, and AbM
 numbering
 <400> 107
 Glu Asp Ser Lys Arg Pro Ser
 1 5
 <210> 108
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> BCMA-55 CDR-L3 (aa) - Kabat, Chothia, and AbM
 numbering
 <400> 108
 Ser Ser Asn Thr Arg Ser Ser Thr Leu Val
 1 5 10
 <210> 109
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> BCMA-55 predicted splice acceptor site

 <400> 109
 gccctcaggg gtttctaadc gcttctctgg ctccaagtct g
 <210> 110
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

41

<220>

<223> BCMA-55 predicted splice acceptor site

<400> 110

cgaggctgat tattactgca gctcaaatac aagaagcagc a 41

<210> 111

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 predicted splice acceptor site (0/SSE)

<400> 111

cgaggccgat tactactgca gcagcaaacac ccggtccagc a 41

<210> 112

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 predicted splice acceptor site (0/SSE)

<400> 112

gcccagcggc gtgtccaata gattcagcgg cagcaagagc g 41

<210> 113

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 scFv

<400> 113

caatctgccc tgactcagcc tgectccgtg tctgcgtctc ctggacagtc gatcgccatc 60

tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggg tggatcaac agcaccagc caaagcccc 120

aaactcatga tttatgagga cagtaagcgg ccctcagggg tttctaatac cttctctggc 180

tccaagtctg gcaacacggc ctcctgacc atctctgggc tccaggctga ggacgaggct 240

gattattact gcagctcaaa tacaagaagc agcactttgg tgttcggcgg agggaccaag 300

ctgaccgtcc taggttctag aggtggtggg ggtagcggcg gcggcggctc tgggtgtggg 360

ggatccctcg agatggccga agtgcagctg gtgcagtctg gggctgagat gaagaagcct 420
 ggggcctcac tgaagctctc ctgcaaggct tctggataca cttcatcga ctactatgta 480
 tactggatgc gacaggcccc tggacaaggg cttgagtcca tgggatggat caaccctaac 540
 agtgggtggca caaactatgc acagaagttt cagggcaggg tcacatgac cagggacacg 600
 tccatcagca cagcctacat ggagctgagc aggctgagat ctgacgacac cgccatgtat 660
 tactgtgcgc gctcccagcg tgacggttac atggattact ggggtcaagg tactctggtg 720

accgtctcct ca 732

<210> 114

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 scFv

<400> 114

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

1 5 10 15

Ser Ile Ala Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Trp Tyr

20 25 30

Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Asp Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala

65 70 75 80

Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Asn Thr Arg Ser Ser Thr Leu Val Phe Gly

85 90 95

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala Glu Val

115 120 125

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

130 135 140

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

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

Thr Val Ser Ser

<210> 115

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 scFv (nt) (O/SSE)

<400> 115

cagtctgccc tgacacagcc tgccagcggt agtgctagtc ccggacagtc tategccatc 60
 agctgtaccg gcaccagctc tgacgttgcc tggatcagc agcacccctg caaggcccct 120
 aagctgatga tctacgagga cagcaagagg ccagcggcgt tgtccaatag attcagcggc 180
 agcaagagcg gcaacaccgc cagcctgaca attagcggac tgcaggccga ggacgaggcc 240
 gattactact gcagcagcaa caccgggtcc agcacactgg tttttggcgg aggcaccaag 300

ctgacagtgc tgggatctag aggtggcgga ggatctggcg gcggaggaag cggaggcggc 360
 ggatctcttg aaatggctga agtgacagtg gtgcagctg gcgccgagat gaagaaacct 420
 ggccgctctc tgaagctgag ctgcaaggcc agcggctaca cttcatcga ctactacgtg 480
 tactggatgc ggcaggcccc tggacaggga ctgcaatcta tgggctggat caacccaat 540
 agcggcggca ccaattacgc ccagaaattc cagggcagag tgaccatgac cagagacacc 600
 agcatcagca ccgctacat ggaactgagc cggtgagat ccgacgacac cgccatgtac 660

tactgcgccca gatctcagcg cgacggctac atggattatt ggggccaggg aacctggtc 720
accgtgtcca gc 732

<210> 116

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 VH chain

<400> 116

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 117

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 VH chain

<400> 117

gaagtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag atgaagaagc ctggggcctc actgaagctc 60
 tcctgcaagg ctcttgata caccttcac gactactatg tatactggat gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtc catgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaactat 180
 gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggagctga gcaggctgag atctgacgac accgccatgt attactgtgc gcgtcccag 300
 cgtgacggtt acatggatta ctggggctcaa ggtactctgg tgaccgtctc ctca 354

<210> 118

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 VH chain (nt) (O/SSE)

<400> 118

gaagtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgag atgaagaaac ctggcgccctc tctgaagctg 60
 agctgcaagg ccagcggtca caccttcac gactactacg tgtactggat gcggcaggcc 120
 cctggacagg gactcgaatc tatgggctgg atcaaccca atagcggcgg caccaattac 180
 gccagaaat tccagggcag agtgaccatg accagagaca ccagcatcag caccgcctac 240
 atggaactga gccggctgag atccgacgac accgccatgt actactgcgc cagatctcag 300
 cgcgacggct acatggatta ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtgtc cagc 354

<210> 119

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 VL chain

<400> 119

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

1 5 10 15

Ser Ile Ala Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Trp Tyr

20 25 30

Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Asp Ser

35 40 45

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

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

<210> 120

<211> 312

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 VL chain

<400> 120

caatctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgcgtctc ctggacagtc gatcgccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggg ttgtatcaac agcaccagc caaagccccc 120
aaactcatga ttatgagga cagtaagcgg ccctcagggg tttctaatac cttctctggc 180
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc atctctgggc tccaggctga ggacgaggct 240
gattattact gcagctcaaa tacaagaagc agcactttgg tgttcggcgg agggaccaag 300
ctgaccgtcc ta 312

<210> 121

<211> 312

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-55 VL chain (nt) (O/SSE)

<400> 121

cagtctgccc tgacacagcc tgccagcgtt agtgctagtc ccggacagtc tatcgccatc 60
agctgtaccg gcaccagctc tgacgttggc ttgtatcagc agcaccctgg caagggccct 120
aagctgatga tctacgagga cagcaagagg ccagcggcgg tgtccaatag attcagcggc 180
agcaagagcg gcaacaccgc cagcctgaca attagcggac tgcaggccga ggacgaggcc 240

gattactact gcagcagcaa cacccggtcc agcacactgg tttttggcgg aggcaccaag 300
ctgacagtgc tg 312

<210> 122
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> BCMA-55-scFv-mFc BCMA binding epitope 1

<400> 122
Met Leu Met Ala Gly
1 5

<210> 123
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> BCMA-55-scFv-mFc BCMA binding epitope 2

<400> 123
Tyr Phe Asp Ser Leu Leu
1 5

<210> 124
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> BCMA-55-scFv-mFc BCMA binding epitope 3

<400> 124
Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr Pro Pro Leu
1 5 10

<210> 125
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-C1 VH Chain

<400> 125

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Ile Asn Trp Val Lys Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Arg Glu Pro Ala Tyr Ala Tyr Asp Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Leu Asp Tyr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 126

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-C1 VH-VL scFv

<400> 126

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Ile Asn Trp Val Lys Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Arg Glu Pro Ala Tyr Ala Tyr Asp Phe

50 55 60
 Arg Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Tyr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Leu Asp Tyr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125

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

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

<210> 127

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-C1 VL Chain

<400> 127

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

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

<210> 128

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-C1 VL-VH scFv

<400> 128

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

Pro Val Glu Glu Asp Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Arg
85 90 95
Thr Ile Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile
115 120 125
Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val
130 135 140
Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ser Ile
145 150 155 160
Asn Trp Val Lys Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met Gly Trp
165 170 175
Ile Asn Thr Glu Thr Arg Glu Pro Ala Tyr Ala Tyr Asp Phe Arg Gly
180 185 190
Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Leu Gln
195 200 205
Ile Asn Asn Leu Lys Tyr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Leu
210 215 220
Asp Tyr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
225 230 235 240
Val Ser Ser

<210> 129

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-C2 VH-VL scFv

<400> 129

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

1 5 10 15

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

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

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

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

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

<210> 130

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-C2 VL-VH scFv

<400> 130

Asp Val Val Met Thr Gln Ser His Arg Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

20 25 30
Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Phe Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln

115 120 125
Ser Gly Pro Asp Leu Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Leu Ser Cys

130 135 140
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Gly Met Asn Trp Val Lys

145 150 155 160
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Phe Lys Trp Met Ala Trp Ile Asn Thr Tyr

165 170 175
Thr Gly Glu Ser Tyr Phe Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe

180 185 190
Ser Val Glu Thr Ser Ala Thr Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu

195 200 205
Lys Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Glu Ile Tyr

210 215 220
Tyr Gly Tyr Asp Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
225 230 235 240
Thr Val Ser Ala

<210> 131

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-C2 VH Chain

<400> 131

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

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

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

<210> 132

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA-C2 VL Chain

<400> 132

Asp Val Val Met Thr Gln Ser His Arg Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100 105

<210> 133

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> BCMA epitope

<400> 133

Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu

1 5

<210> 134

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 ectodomain spacer

<400> 134

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
1 5 10 15

Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro
35

<210> 135

<211> 117

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 ectodomain spacer

<400> 135

attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60
catgtgaaag ggaacacct ttgtccaagt ccctatttc cgggaccttc taagccc 117

<210> 136

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 endo

<400> 136

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 137

<211> 123

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 endo

<400> 137

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60
gggccacccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
tcc 123

<210> 138

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 transmembrane domain

<400> 138

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

1 5 10 15

Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20 25

<210> 139

<211> 84

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 transmembrane domain

<400> 139

atgttttggg tgctggctgt ggtcggaggg gtgctggcct gttacagcct gctggtgaca 60
gtcgttttca tcattttctg ggtg 84

<210> 140

<211> 84

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 transmembrane domain

<400> 140

atgttctggg tgctcgttgt cgttggcgga gtgctggcct gttacagcct gctggttacc 60

gtggccttca tcattcttttg ggtc 84

<210> 141

<211> 41

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28TM predicted splice acceptor site

<400> 141

aggggtgctg gcctgttaca gcctgctggt gacagtcgct t 41

<210> 142

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD33 signal peptide

<400> 142

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala

1 5 10 15

<210> 143

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3-zeta derived intracellular signaling domain

<400> 143

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 65 70 75 80
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 85 90 95
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

 100 105 110

<210> 144

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3-zeta derived intracellular signaling domain

<400> 144

agagtcaagt tttccaggtc cgccgacgct ccagcctacc agcaggggca gaaccagctg 60
 tacaacgagc tgaacctggg cagaaggga gagtacgacg tcctggataa gcggagaggc 120
 cgggaccctg agatgggcgg caagcctcgg cggaagaacc cccaggaagg cctgtataac 180
 gaactgcaga aagacaagat ggccgaggcc tacagcgaga tcggcatgaa gggcgagcgg 240
 aggcggggca agggccacga cggcctgtat cagggcctgt ccaccgccac caaggatacc 300

tacgacgcc tgcacatgca ggccctgccc ccaagg 336

<210> 145

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3-zeta derived intracellular signaling domain

<400> 145

agagtgaagt tcagcagatc cgccgacgct ccagcctatc agcagggcca aaaccagctg 60
 tacaacgagc tgaacctggg gagaagagaa gagtacgacg tgctggataa gcggagaggc 120
 agagatcctg aaatgggcgg caagcccaga cggaagaatc ctcaagaggg cctgtataat 180
 gagctgcaga aagacaagat ggccgaggcc tacagcgaga tcggaatgaa gggcgagcgc 240
 agaagaggca agggacacga tggactgtac cagggcctga gcaccgccac caaggatacc 300

tatgacgcac tgcacatgca ggccctgcc cctaga 336

<210> 146

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8 alpha signal peptide

<400> 146

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala

<210> 147

<211> 183

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Cynomolgus BCMA (GenBank No. EHH60172.1)

<400> 147

Met Leu Gln Met Ala Arg Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Asp Cys Lys Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Thr Pro

20 25 30

Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Met Thr Asn Ser Val

35 40 45

Lys Gly Met Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu Ile

50 55 60

Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Thr Phe Leu Leu Arg Lys Met Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys Glu

115 120 125
Asp Cys Ile Lys Asn Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe Pro

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

180

<210> 148

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> E2A peptide

<400> 148

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser

1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 149

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> E2A peptide

<400> 149

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

1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 150

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> EF1a/HTLV promoter forward primer

<400> 150

ctttttcgca acgggtttgc 20

<210> 151

<211> 544

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> EF1alpha promoter with HTLV1 enhancer

<400> 151

ggatctgcga tcgtccggt gcccgtagt ggccagagcg cacatgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gcctttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcattcttc cttcacgcgc ccgccgcctt acctgaggcc 300

gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgctccccgc ctgtggtgcc tctgaaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcggtt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctac 544

<210> 152

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> F2A peptide

<400> 152

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

Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 153

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> F2A peptide

<400> 153

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

1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20 25

<210> 154

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GMCSFR alpha chain signal peptide

<400> 154

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro

1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro

20

<210> 155

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GMCSFR alpha chain signal peptide

<400> 155

atgcttctcc tggtgacaag ccttctgctc tgtgagttac cacaccacgc attcctcctg 60

atccca 66

<210> 156

<211> 229

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge-CH2-CH3 spacer

<400> 156

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

100 105 110

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

115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu

180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys

225

<210> 157

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge-CH3 spacer

<400> 157

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gln Pro Arg

1 5 10 15
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

20 25 30
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

35 40 45
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

50 55 60
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

65 70 75 80
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

85 90 95
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

100 105 110
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

115

<210> 158

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human BCMA epitope (residues 17-27)

<400> 158

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg

1 5 10

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human BCMA epitope (residues 21-27)

<400> 159

Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg

1 5

<210> 160

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human BCMA epitope (residues 30-39)

<400> 160

Ser Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg

1 5 10

<210> 161

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human BCMA epitope (residues 44-50)

<400> 161

Ser Val Thr Asn Ser Val Lys

1 5

<210> 162

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human BCMA epitope (residues 8-15)

<400> 162

Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe

1 5

<210> 163

<211> 135

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Human BCMA Variant (GenBank No. ABN42510.1)

<400> 163

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr

20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Arg Ser Gly Leu Leu

35 40 45

Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu Ile

50 55 60

Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys Glu

65 70 75 80

Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe Pro

85 90 95

Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys Thr

100 105 110

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

115 120 125

Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg

130 135

<210> 164

<211> 184

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Human BCMA (GenBank No. BAB60895.1)

<400> 164

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr

20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser

35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu

50 55 60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu

100 105 110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys

115 120 125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe

130 135 140

Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys

145 150 155 160

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu

165 170 175

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg

180

<210> 165

<211> 184

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Human BCMA (NCBI No. NP_001183.2)

<400> 165

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser

1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr

20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser

35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu

50 55 60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu

100 105 110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys

115 120 125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe

130 135 140

Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys

145 150 155 160

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu

165 170 175

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg

180

<210> 166

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human IgG -kappa signal peptide

<400> 166

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly

20

<210> 167

<211> 60

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human IgG -kappa signal sequence

<400> 167

atggtgctgc agaccaggt gttcatcagc ctgctgctgt ggatctccgg agcatacgga 60

<210> 168

<211> 60

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human IgG -kappa signal sequence

<400> 168

atggtgctgc agacacaggt gttcatcagc ctgctgctgt ggatctccgg agcatacgga 60

<210> 169

<211> 60

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human IgG -kappa signal sequence

<400> 169

atggtgctgc agaccaggt gttcatcagc ctgctgctgt ggatctctgg cgcctacggc 60

<210> 170

<211> 60

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human IgG -kappa signal sequence

<400> 170

atggtgctgc agaccaggt gttcatcagc ctgctgctgt ggatctctgg cgcctatgga 60

<210> 171

<211> 60

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> human IgG -kappa signal sequence

<400> 171

atggtgctgc agacacaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctctgg agcatacgga 60

<210> 172

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Human IgG2 Fc (Uniprot P01859)

<400> 172

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

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

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

<210> 173

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Human IgG4 Fc (Uniprot P01861)

<400> 173

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

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

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 174

<211> 228

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Modified IgG4 hinge- IgG2/IgG4 CH2- IgG4 CH3
spacer

<400> 174

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser Thr
65 70 75 80
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
100 105 110
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
180 185 190
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220
Ser Leu Gly Lys
225
<210> 175
<211> 684
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Modified IgG4 hinge- IgG2/IgG4 CH2- IgG4 CH3
spacer
<400> 175

gaatctaagt acggaccgcc ctgccctccc tgcctgtctc ctctgtggc tggaccaagc 60
 gtgttctctgt ttccacctaa gcctaaagat accctgatga tttcccgac acctgaagtg 120
 acttgcgtgg tcgtggacgt gagccaggag gatccagaag tgcagttcaa ctggtacgtg 180
 gacggcgtgg aagtccacaa tgctaagact aaaccccgag aggaacagtt tcagtcaact 240
 taccgggtcg tgagcgtgct gaccgtcctg catcaggatt ggctgaacgg gaaggagtat 300

aagtgcaaag tgtctaataa gggactgcct agctccatcg agaaaacaat tagtaaggca 360
 aaagggcagc ctcgagaacc acaggtgtat accctgcccc ctagccagga ggaaatgacc 420
 aagaaccagg tgtccctgac atgtctggtc aaaggcttct atccaagtga catcgccgtg 480
 gagtgggaat caaatgggca gcccgagaac aattacaaga ccacaccacc cgtgctggac 540
 tctgatggaa gtttctttct gtattccagg ctgaccgtgg ataaatctcg ctggcaggag 600
 ggcaacgtgt tctcttgac tgatcatgcac gaagccctgc acaatcatta tacacagaag 660
 tcactgagcc tgcctctggg caaa 684

<210> 176

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker

<400> 176

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 177

<211> 399

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MND promoter

<400> 177

tttatttagt ctccagaaaa aggggggaat gaaagacccc acctgtaggt ttggcaagct 60

aggatcaagg ttaggaacag agagacagca gaatatgggc caaacaggat atctgtggta 120

agcagttcct gccccggctc agggccaaga acagttggaa cagcagaata tgggccaac 180
aggatatctg tggtaagcag ttctgcccc ggctcagggc caagaacaga tggccccag 240
atgcgggtccc gccctcagca gtttctagag aaccatcaga tgtttccagg gtgcccacag 300
gacctgaaat gaccctgtgc cttatttgaa ctaaccaatc agttcgcttc tcgcttctgt 360
tcgcgcgctt ctgctccccg agctcaataa aagagccca 399

<210> 178

<211> 554

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> modified EF1 alpha promoter

<400> 178

ggatctgcga tcgctccggt gccctcagc gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggagggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcgggggtaa 120

actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gcctttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcctctctc cttcacgcgc ccgcccgcct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctccgc ctgtgggtgcc tctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag cgcc 554

<210> 179

<211> 185

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<223> Mouse BCMA (NCBI No. NP_035738.1)

<400> 179

Met Ala Gln Gln Cys Phe His Ser Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His

1 5 10 15

Ala Cys Lys Pro Cys His Leu Arg Cys Ser Asn Pro Pro Ala Thr Cys

20 25 30
Gln Pro Tyr Cys Asp Pro Ser Val Thr Ser Ser Val Lys Gly Thr Tyr
35 40 45

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

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

Gly Met Glu Lys Pro Thr His Thr Arg
180 185

<210> 180

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Optimized splice acceptor site

<400> 180

cagtttcttc ctgtatagta gactcacctt ggataaatca a

41

<210> 181

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Optimized splice acceptor site

<400> 181

gggcaacgtg ttcagctgca gcgtgatgca cgaggccctg c 41

<210> 182

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Optimized splice acceptor site

<400> 182

cggagtgtg gcctgttaca gcctgtgtgt taccgtggcc t 41

<210> 183

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Optimized splice acceptor site

<400> 183

gctgagagtg aagttcagca gatccgccga cgctccagcc t 41

<210> 184

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Optimized splice acceptor site

<400> 184

acacctccac tggatcccca agagctggat atcctgaaaa c 41

<210> 185

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Optimized splice acceptor site
 <400> 185
 accggattcc tcctgatcca agcctggcca gagaacagaa c 41
 <210> 186
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Optimized splice acceptor site
 <400> 186
 acggccagtt tagcctggct gtggtgtctc tgaacatcac c 41
 <210> 187
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Optimized splice acceptor site
 <400> 187
 aagttttctt ctgtattcca gactgaccgt ggataaatct c 41
 <210> 188
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Optimized splice acceptor site
 <400> 188
 cgccttgtec tccttgcccc gctcctctctg ttgccggacc t 41
 <210> 189
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Optimized splice donor site

<400> 189	
agtctaaata cggac	15
<210> 190	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Optimized splice donor site	
<400> 190	
tcaactggta tgtgg	15
<210> 191	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Optimized splice donor site	
<400> 191	
accatctcca aggcc	15
<210> 192	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Optimized splice donor site	
<400> 192	
gccccaggtt tacac	15
<210> 193	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Optimized splice donor site	
<400> 193	

tcagcagatc cgccg	15
<210> 194	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Optimized splice donor site	
<400> 194	
ctcctgtgtg aactc	15
<210> 195	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Optimized splice donor site	
<400> 195	
tcggaaagtg tgcaa	15
<210> 196	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Optimized splice donor site	
<400> 196	
cagcacggcc agttt	15
<210> 197	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Optimized splice donor site	
<400> 197	
aaccggggcg agaac	15

<210> 198

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Optimized splice donor site

<400> 198

ctggaaggcg agccc 15

<210> 199

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Optimized splice donor site (last 4 nt outside of
coding region)

<400> 199

tgttcatgtg agcgg 15

<210> 200

<211> 684

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> optimized SSE modified IgG4 hinge- IgG2/IgG4 CH2-
IgG4 CH3 spacer

<400> 200

gagtctaaat acggaccgcc ttgtcctcct tgtcccgtc ctctgttgc cggaccttc 60
gtgttcctgt ttctcctaaa gcctaaggac accctgatga tcagcaggac ccctgaagtg 120
acctgcgtgg tgggtgatgt gtccaagag gatcccagg tgcagttcaa ctggtatgtg 180
gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc aagcctagag aggaacagtt ccagagcacc 240

tacagagtgg tgtccgtgct gacagtgtg caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac 300
aagtgcagg tgtccaacaa gggcctgcct agcagcatcg agaaaacat ctccaaggcc 360
aagggccagc caagagagcc ccaggtttac aactgcctc caagccaaga ggaaatgacc 420
aagaatcagg tgtccctgac atgcctgtgc aagggttctt acccctccga tatcgccgtg 480

gaatgggaga gcaatggcca gcctgagaac aactacaaga ccacacctcc tgtgctggac 540
 agcgacggca gtttcttct gtatagtaga ctcaccgtgg ataatcaag atggcaagag 600
 ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggcctgc acaaccacta cacccagaaa 660
 agcctgagcc tgctcttggg caag 684

<210> 201

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> P2A peptide

<400> 201

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn

1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 202

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> P2A peptide

<400> 202

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

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 203

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> predicted splice acceptor site

<400> 203

cgcccttgcc tccttgcca gctcctcctg ttgccggacc t 41

<210> 204

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> predicted splice acceptor site

<400> 204

cagtttcttc ctgtatagta gactcacctg ggataaatca a 41

<210> 205

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> predicted splice acceptor site

<400> 205

accggattcc tcctgattca ggctggcca gagaacagaa c 41

<210> 206

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Predicted splice donor site

<400> 206

cgtctaggta agttt 15

<210> 207

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Predicted splice donor site

<400> 207

gaccaaggtg accgt 15

<210> 208

<211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 208
 tgcactggta ccagc 15
 <210> 209
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 209
 taaactggta ccagc 15
 <210> 210
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 210
 atctcctgta agggt 15
 <210>
 > 211
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 211
 ggtcaaggta ctctg 15
 <210> 212
 <211> 15

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 212
 gaggacagta agcgg 15
 <210> 213
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 213
 ggtcaaggta ctctg 15
 <210> 214
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 214
 tgctccgtg tctgc 15
 <210> 215
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 215
 caccaagggtg accgt 15
 <210> 216
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 216
 tgaactggta tcagc 15

<210> 217
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 217
 atctcttgaa atggt 15

<210> 218
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 218
 ggccagggca cactg 15

<210> 219
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 219
 gaggacagca agagg 15

<210> 220
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Predicted splice donor site
 <400> 220
 ggccagggaa ccctg 15
 <210> 221
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 221
 tgccagcggtt agtgc 15
 <210> 222
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 222
 aatctaagta cggac 15
 <210> 223
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 223
 tcaactggta cgtgg 15
 <210> 224
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 224

acaattagta aggca	15
<210> 225	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Predicted splice donor site	
<400> 225	
accacaggtg tatac	15
<210> 226	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Predicted splice donor site	
<400> 226	
tttccaggtc cgccg	15
<210> 227	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Predicted splice donor site	
<400> 227	
ctgctctgtg agtta	15
<210> 228	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Predicted splice donor site	
<400> 228	
acgcaaagtg tgtaa	15

<210> 229
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 229
 caacatggtc agttt 15
 <210> 230
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 230
 aacagaggtg aaaac 15
 <210> 231
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Predicted splice donor site
 <400> 231
 ctggagggtg agcca 15

 <210> 232
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> promoter predicted splice acceptor site
 <400> 232
 tggctccgcc tttttccga ggggtggggga gaaccgtata t 41
 <210> 233
 <211> 41

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> promoter predicted splice acceptor site
 <400> 233
 tgaactgcgt ccgccgtcta ggtaagtta aagctcaggt c 41
 <210> 234
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> promoter predicted splice acceptor site
 <400> 234
 ttctgttctg ccgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg c 41
 <210> 235
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Reverse primer just 5' of WPRE
 <400> 235
 gatatcgaat tcctgcagcc 20
 <210> 236
 <211> 684
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Spacer - codon optimized
 <400> 236
 gagtctaaat acggaccgcc ttgtcctcct tgtccagctc ctctgttgc cggaccttcc 60
 gtgttctctg ttcttccaaa gcctaaggac acctgatga tcagcaggac ccctgaagtg 120
 acctgcgtgg tggatgatgt gtccaagag gatcccaggg tgcagttcaa ttggtacgtg 180
 gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc aagcctagag aggaacagtt ccagagcacc 240

tacagagtgg tgtccgtgct gacagtgcctg caccaggatt ggctgaacgg caaagagtac 300
aagtgaagg tgtccaacaa gggcctgcct agcagcatcg agaaaacat ctccaaggcc 360
aagggccagc caagagagcc ccaggtttac aactgcctc caagccaaga ggaaatgacc 420
aagaatcagg tgtccctgac atgcctggc aagggttct acccctccga tatcgccgtg 480
gaatgggaga gcaatggcca gcctgagaac aactacaaga ccacacctcc tgtgctggac 540
agcgacggca gtttttctct gtatagtaga ctcaccgtgg ataaatcaag atggcaagag 600

ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggccctgc acaaccacta caccagaaa 660
agcctgagcc tgtctctggg caaa 684

<210> 237

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Spacer (IgG4hinge)

<400> 237

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 238

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Spacer (IgG4hinge)

<400> 238

gaatctaagt acggaccgcc ctgccccct tgcct 36

<210> 239

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> spacer predicted splice acceptor site

<400> 239

aagttttctt ctgtattcca ggctgaccgt ggataaatct c 41

<210> 240

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> spacer predicted splice acceptor site

<400> 240

gggcaacgtg ttctcttgca gtgtcatgca cgaagccctg c 41

<210> 241

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A peptide

<400> 241

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro

1	5	10	15

Gly Pro

<210> 242

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A peptide

<400> 242

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1	5	10	15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 243

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A peptide

<400> 243

Leu Glu Gly Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp

1

5

10

15

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg

20

<210> 244

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A peptide

<400> 244

ctcgaggcg gcggagagg cagaggaagt cttctaacat gcggtgacgt ggaggagaat 60

cccgcccta gg

72

<210> 245

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A peptide

<400> 245

cttgaagtg gtggcgaagg cagaggcagc ctgcttacat gcggagatgt ggaagagaac 60

cccgaccta ga

72

<210> 246

<211> 357

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> truncated EGFR (tEGFR) sequence

<400> 246

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro

1 5 10 15
 Ala Phe Leu Leu Ile Pro Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly
 20 25 30
 Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe
 35 40 45
 Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala
 50 55 60
 Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu
 65 70 75 80
 Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile
 85 90 95
 Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu
 100 105 110
 Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala
 115 120 125
 Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu
 130 135 140
 Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr
 145 150 155 160
 Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys
 165 170 175
 Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly
 180 185 190
 Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu
 195 200 205
 Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys
 210 215 220
 Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu
 225 230 235 240
 Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met
 245 250 255

Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala
 260 265 270
 His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val
 275 280 285
 Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His
 290 295 300
 Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro
 305 310 315 320
 Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala
 325 330 335
 Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly
 340 345 350
 Ile Gly Leu Phe Met
 355

<210

> 247

<211> 1074

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> truncated EGFR (tEGFR) sequence

<400> 247

atgcttctcc tggtgacaag ccttctgctc tgtgagttac cacaccacgc attcctcctg 60
 atcccacgca aagtgtgtaa cggaataggt attggtgaat ttaaagactc actctccata 120
 aatgctacga atattaaaca cttcaaaaac tgcacctcca tcagtggcga tctccacatc 180
 ctgccggtgg catttagggg tgactccttc acacatactc ctctcttga tccacaggaa 240
 ctggatattc tgaaaaccgt aaaggaaatc acagggtttt tgctgattca ggcttggcct 300
 gaaaacagga cggacctcca tgcctttgag aacctagaaa tcatacgcgg caggaccaag 360
 caacatggtc agttttctct tgcagtcgtc agcctgaaca taacatcctt gggattacgc 420
 tccctcaagg agataagtga tggagatgtg ataatttcag gaaacaaaaa tttgtgctat 480
 gcaaatacaa taaactggaa aaaactgttt gggacctccg gtcagaaaac caaaattata 540
 agcaacagag gtgaaaacag ctgcaaggcc acaggccagg tctgccatgc cttgtgctcc 600
 cccgagggct gctggggccc ggagcccagg gactgcgtct cttgccggaa tgtcagccga 660

ggcagggaat gcgtggacaa gtgcaacctt ctggagggtg agccaaggga gtttgtggag 720
aactctgagt gcatacagt ccacccagag tgcctgcctc aggccatgaa catcacctgc 780
acaggacggg gaccagacaa ctgtatccag tgtgccact acattgacgg cccccactgc 840

gtcaagacct gcccggcagg agtcatggga gaaaacaaca ccttggtctg gaagtacgca 900
gacgccggcc atgtgtgcca cctgtgcat ccaaaactgca cctacggatg cactgggcca 960
ggtcttgaag gctgtccaac gaatgggcct aagatcccgt ccatcgccac tgggatggtg 1020
ggggccctcc tcttctgct ggtggtggcc ctggggatcg gcctcttcat gtga 1074

<210> 248

<211> 1074

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> truncated EGFR (tEGFR) sequence (nt) (0/SSE)

<400> 248

atgtctctcc tcgtgacaag cctgtctctg tgtgaactcc ctcatccagc tttctgctc 60
attcctcgga aagtgtgcaa cggcatcggc atcggagagt tcaaggacag cctgagcatc 120

aatgccacca acatcaagca cttcaagaat tgcaccagca tcagcggcga cctgcacatt 180
ctgcctgtgg ccttagagg cgacagcttc acccacacac ctccactgga tcccaagag 240
ctggatatcc tgaaccgt gaaagagatt accggattcc tctgatcca agcctggcca 300
gagaacagaa ccgatctgca cgccttcgag aacctcgaga tcatcagagg ccggacaaa 360
cagcacggcc agtttagct ggctgtggtg tctctgaaca tcaccagtct gggcctgaga 420
agcctgaaag aaatctccga cggcgacgtg atcatctccg gaaacaagaa cctgtgctac 480
gccaacacca tcaactggaa gaagctgttc ggcacctccg gccagaaaac aaagatcatc 540
tctaaccggg gcgagaacag ctgcaaggcc accggacaag tttgtcacgc cctgtgtagc 600

cctgaaggct gttggggacc cgaacctaga gactgtgtgt cctgccggaa tgtgtccgg 660
ggcagagaat gtgtggataa gtgcaacctg ctggaaggcg agccccgca gtttgtggaa 720
aacagcgagt gcatccagt tcaccccgag tgtctgcccc aggccatgaa cattacatgc 780
accggcagag gccccgaaa ctgtattcag tgcgccact acatcgacgg cctcactgc 840
gtgaaaacat gtccagctgg cgtgatggga gagaacaaca ccctcgtgtg gaagtatgcc 900
gacgccggac atgtgtgcca cctgtgtcac cctaattgca cctacggctg taccggacct 960
ggcctggaag gatgccctac aaacggccct aagatcccca gcattgccac cggaatggtt 1020

ggagccctgc tgcttctggtt ggtggtggcc ctcggaatcg gcctgttcat gtga 1074

<210> 249

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> truncated marker predicted splice acceptor site

<400> 249

actcctcctc tggatccaca ggaactggat attctgaaaa c 41

<210> 250

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> truncated marker predicted splice acceptor site

<400> 250

acagggtttt tgctgattca ggcttggcct gaaaacagga c 41

<210> 251

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> truncated marker predicted splice acceptor site

<400> 251

atggtcagtt ttctcttgca gtcgtcagcc tgaacataac a 41

<210> 252

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> truncated marker predicted splice donor site

<400> 252

tcttcatgtg agcgg 15

<210> 253

<211> 589

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Woodchuck Hepatitis Virus (WHP)

Posttranscriptional Regulatory Element (WPRE)

<400> 253

aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttgc 60

ccttttacgc taagtggata cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgt 120

atggctttca ttttctctc cttgtataaa tcctgggtgc tgtctcttta tgaggagt 180

tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtgggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact 240

ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttcggga ctttcgctt cccctccct 300

attgccacgg cggaactcat cgccgcctgc ctgcccgt gctggacagg ggctcggctg 360

ttgggcactg acaattccgt ggtgtgtcg gggaaatcat cgtcctttcc ttggctgctc 420

gcctgtgttg ccacctggat tctgcgcggg acgtccttct gctacgtccc ttcggccctc 480

aatccagcgg accttcctc ccgcggcctg ctgcggctc tgcggcctct tccgcgtctt 540

cgcttcgcc ctacagcag tcggatctcc ctttgggccg cctccccgc 589

<210> 254

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> predicted splice site

<400> 254

tcaattggta cgtgg 15

<210> 255

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker

<400> 255

Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Glu Met Ala
 20

<210> 256

<211> 159

<212> PRT

<213> Streptomyces avidinii

<220>

<223> Streptavidin (UniProt No. P22629)

<400> 256

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

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

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

<210> 257

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Minimal streptavidin

<400> 257

Glu Ala Gly Ile Thr Gly Thr Trp Tyr Asn Gln Leu Gly Ser Thr Phe

1	5	10	15
Ile Val Thr Ala Gly Ala Asp Gly Ala Leu Thr Gly Thr Tyr Glu Ser			
20	25	30	
Ala Val Gly Asn Ala Glu Ser Arg Tyr Val Leu Thr Gly Arg Tyr Asp			
35	40	45	
Ser Ala Pro Ala Thr Asp Gly Ser Gly Thr Ala Leu Gly Trp Thr Val			
50	55	60	
Ala Trp Lys Asn Asn Tyr Arg Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp Ser			
65	70	75	80
Gly Gln Tyr Val Gly Gly Ala Glu Ala Arg Ile Asn Thr Gln Trp Leu			
85	90	95	
Leu Thr Ser Gly Thr Thr Glu Ala Asn Ala Trp Lys Ser Thr Leu Val			
100	105	110	
Gly His Asp Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser			
115	120	125	

<210> 258

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220>

<223> Streptavidin-binding peptide

<400> 258

His Pro Gln Phe

1

<210> 259

<211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Streptavidin Binding peptide
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa is selected from Gln, Asp, and Met
 <400> 259
 His Pro Xaa
 1
 <210> 260
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Streptavidin Binding peptide
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa is Trp, Lys or Arg

 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa is any amino acid
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa is Gly or Glu
 <220>
 <221> VARIANT
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa is Gly, Lys or Arg

<400> 260

Xaa Xaa His Pro Gln Phe Xaa Xaa

1 5

<210> 261

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Streptavidin Binding peptide

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa is any amino acid

<220>

>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa is Gly or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa is Gly, Lys or Arg

<400> 261

Trp Xaa His Pro Gln Phe Xaa Xaa

1 5

<210> 262

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Streptavidin Binding peptide, Strep-tag

<400> 262

Trp Arg His Pro Gln Phe Gly Gly

1 5

<210> 263

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Strep-tag II

<400> 263

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

1 5

<210> 264

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequential modules of streptavidin-binding peptide

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa is any amino acid

<220>

<221> REPEAT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa is repeated 8 or 12 times

<400> 264

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Xaa Trp Ser His Pro Gln Phe Glu

1 5 10 15

Lys

<210> 265

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequential modules of streptavidin-binding peptide

<220>

<221> REPEAT

<222> (9)...(12)

<223> GlyGlyGlySer is repeated 2 or 3 times

<400> 265

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Ser Trp Ser His Pro

1 5 10 15

Gln Phe Glu Lys

20

<210> 266

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Twin-Strep-tag

<400> 266

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

20 25

<210> 267

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Twin-Strep-tag

<400> 267

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

20

<210> 268

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Twin-Strep-tag

<400> 268

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Ser Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

20 25

<210> 269

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Twin-Strep-tag

<400> 269

Ser Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

20 25 30

<210> 270

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Twin-Strep-tag

<400> 270

Ser Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Ser Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

20 25 30

<210> 271

<211> 159

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mutein Streptavidin Val44-Thr45-Ala46-Arg47

<400> 271

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

1 5 10 15

Ile Thr Gly Thr Trp Tyr Asn Gln Leu Gly Ser Thr Phe Ile Val Thr

20 25 30

Ala Gly Ala Asp Gly Ala Leu Thr Gly Thr Tyr Val Thr Ala Arg Gly

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Asn Tyr Arg Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp Ser Gly Gln Tyr

85 90 95

Val Gly Gly Ala Glu Ala Arg Ile Asn Thr Gln Trp Leu Leu Thr Ser

100 105 110

Gly Thr Thr Glu Ala Asn Ala Trp Lys Ser Thr Leu Val Gly His Asp

115 120 125

Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser Ile Asp Ala Ala Lys

130 135 140

Lys Ala Gly Val Asn Asn Gly Asn Pro Leu Asp Ala Val Gln Gln

145 150 155

<210> 272

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mutein Streptavidin Val44-Thr45-Ala46-Arg47

<400> 272

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

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

<210> 273

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mutein Streptavidin Val44-Thr45-Ala46-Arg47

<400> 273

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

Asp Ser Ala Pro Ala Thr Asp Gly Ser Gly Thr Ala Leu Gly Trp Thr
 50 55 60
 Val Ala Trp Lys Asn Asn Tyr Arg Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp

65	70					75					80				
Ser	Gly	Gln	Tyr	Val	Gly	Gly	Ala	Glu	Ala	Arg	Ile	Asn	Thr	Gln	Trp
85					90					95					
Leu	Leu	Thr	Ser	Gly	Thr	Thr	Glu	Ala	Asn	Ala	Trp	Lys	Ser	Thr	Leu
100					105					110					

Val Gly His Asp Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser
115 120 125

<210> 274

<211> 159

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Mutein Streptavidin Ile44-Gly45-Ala-46-Arg47

<400> 274

Asp	Pro	Ser	Lys	Asp	Ser	Lys	Ala	Gln	Val	Ser	Ala	Ala	Glu	Ala	Gly
1				5					10					15	
Ile	Thr	Gly	Thr	Trp	Tyr	Asn	Gln	Leu	Gly	Ser	Thr	Phe	Ile	Val	Thr
			20					25					30		

Ala Gly Ala Asp Gly Ala Leu Thr Gly Thr Tyr Ile Gly Ala Arg Gly
35 40 45

Asn Ala Glu Ser Arg Tyr Val Leu Thr Gly Arg Tyr Asp Ser Ala Pro
50 55 60

Ala Thr Asp Gly Ser Gly Thr Ala Leu Gly Trp Thr Val Ala Trp Lys
65 70 75 80

Asn Asn Tyr Arg Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp Ser Gly Gln Tyr
85 90 95

Val Gly Gly Ala Glu Ala Arg Ile Asn Thr Gln Trp Leu Leu Thr Ser

100 105 110

Gly Thr Thr Glu Ala Asn Ala Trp Lys Ser Thr Leu Val Gly His Asp
115 120 125

Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser Ile Asp Ala Ala Lys
130 135 140

Lys Ala Gly Val Asn Asn Gly Asn Pro Leu Asp Ala Val Gln Gln

145 150 155

<210> 275

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mutein Streptavidin Ile44-Gly45-Ala-46-Arg47

<400> 275

Glu Ala Gly Ile Thr Gly Thr Trp Tyr Asn Gln Leu Gly Ser Thr Phe

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Arg Gly Asn Ala Glu Ser Arg Tyr Val Leu Thr Gly Arg Tyr Asp

35 40 45

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

50 55 60

Ala Trp Lys Asn Asn Tyr Arg Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp Ser

65 70 75 80

Gly Gln Tyr Val Gly Gly Ala Glu Ala Arg Ile Asn Thr Gln Trp Leu

85 90 95

Leu Thr Ser Gly Thr Thr Glu Ala Asn Ala Trp Lys Ser Thr Leu Val

100 105 110

Gly His Asp Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser

115 120 125

<210> 276

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mutein Streptavidin Ile44-Gly45-Ala-46-Arg47

<400> 276

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

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

Leu Leu Thr Ser Gly Thr Thr Glu Ala Asn Ala Trp Lys Ser Thr Leu
 100 105 110
 Val Gly His Asp Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser
 115 120 125

<210> 277

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mutein Streptavidin Val44-Thr45-Ala46-Arg47 and

Glu117, Gly120, Try121 (mutein m1-9)

<400> 277

Glu Ala Gly Ile Thr Gly Thr Trp Tyr Asn Gln Leu Gly Ser Thr Phe
 1 5 10 15

Ile Val Thr Ala Gly Ala Asp Gly Ala Leu Thr Gly Thr Tyr Val Thr
 20 25 30

Ala Arg Gly Asn Ala Glu Ser Arg Tyr Val Leu Thr Gly Arg Tyr Asp
 35 40 45

Ser Ala Pro Ala Thr Asp Gly Ser Gly Thr Ala Leu Gly Trp Thr Val
 50 55 60

Ala Trp Lys Asn Asn Tyr Arg Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp Ser
65 70 75 80

Gly Gln Tyr Val Gly Gly Ala Glu Ala Arg Ile Asn Thr Gln Trp Leu
85 90 95

Leu Thr Ser Gly Thr Thr Glu Glu Asn Ala Gly Tyr Ser Thr Leu Val
100 105 110

Gly His Asp Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser
115 120 125

<210> 278

<211> 139

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Mutein Streptavidin Val44-Thr45-Ala46-Arg47 and
Glu117, Gly120, Try121 (mutein m1-9)

<400> 278

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

Ile Thr Gly Thr Trp Tyr Asn Gln Leu Gly Ser Thr Phe Ile Val Thr
20 25 30

Ala Gly Ala Asp Gly Ala Leu Thr Gly Thr Tyr Val Thr Ala Arg Gly
35 40 45

Asn Ala Glu Ser Arg Tyr Val Leu Thr Gly Arg Tyr Asp Ser Ala Pro
50 55 60

Ala Thr Asp Gly Ser Gly Thr Ala Leu Gly Trp Thr Val Ala Trp Lys
65 70 75 80

Asn Asn Tyr Arg Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp Ser Gly Gln Tyr
85 90 95

Val Gly Gly Ala Glu Ala Arg Ile Asn Thr Gln Trp Leu Leu Thr Ser
100 105 110

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

	115		120		125
Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser					
	130		135		
<210>	279				
<211>	127				
<212>	PRT				
<213>	Artificial Sequence				
<220>					
<223>	Minimal streptavidin				
<400>	279				
Met Glu Ala Gly Ile Thr Gly Thr Trp Tyr Asn Gln Leu Gly Ser Thr					
1 5 10 15					
Phe Ile Val Thr Ala Gly Ala Asp Gly Ala Leu Thr Gly Thr Tyr Glu					
	20		25		30
Ser Ala Val Gly Asn Ala Glu Ser Arg Tyr Val Leu Thr Gly Arg Tyr					
	35		40		45
Asp Ser Ala Pro Ala Thr Asp Gly Ser Gly Thr Ala Leu Gly Trp Thr					
50 55 60					
Val Ala Trp Lys Asn Asn Tyr Arg Asn Ala His Ser Ala Thr Thr Trp					
65 70 75 80					
Ser Gly Gln Tyr Val Gly Gly Ala Glu Ala Arg Ile Asn Thr Gln Trp					
	85		90		95
Leu Leu Thr Ser Gly Thr Thr Glu Ala Asn Ala Trp Lys Ser Thr Leu					
	100		105		110
Val Gly His Asp Thr Phe Thr Lys Val Lys Pro Ser Ala Ala Ser					
	115		120		125
<210>	280				
<211>	119				
<212>	PRT				
<213>	Artificial Sequence				
<220>					
<223>	Variable Heavy chain of anti-CD3 antibody OKT3				

<400> 280

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 281

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Variable Light chain of anti-CD3 antibody OKT3

<400> 281

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Arg Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Gly Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn
100 105

<210> 282

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Variable Heavy chain of anti-CD28 antibody CD28.3

<400> 282

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

Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr Ile Ile His

20 25 30

Trp Ile Lys Leu Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Trp Phe
35 40 45

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

Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu
65 70 75 80

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

85 90 95

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

Met Val Thr Val
115

<210> 283

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Variable Light chain of anti-CD28 antibody CD28.3

<400> 283

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

1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Asn Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Cys

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105