(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0020932
(43) 공개일자 2021년02월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/62 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/62 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2020-7037101
(22) 출원일자(국제) 2019년06월12일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년12월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/036830
(87) 국제공개번호 WO 2019/241426
국제공개일자 2019년12월19일
(30) 우선권주장
62/684,628 2018년06월13일 미국(US)
62/832,991 2019년04월12일 미국(US)

(71) 출원인
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
(72) 발명자
아부저브, 아이다
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250
플레밍, 토니
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 60 항

(54) 발명의 명칭 **BCMA 키메라 항원 수용체 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 BCMA의 발현과 관련된 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 BCMA에 특이적인 키메라 항원 수용체(CAR), 이를 암호화하는 벡터, 및 BCMA CAR을 포함하는 재조합 T 세포에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 BCMA 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 유전자 변형된 T 세포를 투여하는 방법을 포함한다.

(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
C12N 5/0636 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)
C07K 2319/02 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)
C07K 2319/33 (2013.01)

(72) 발명자
황, 루
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250
홍, 코니
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250
블랭켄쉽, 존
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250
홈버그, 브라이언
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250
장, 총후이
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250
부, 더슈
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 250

명 세 서

청구범위

청구항 1

키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 단리된 핵산 분자로서, 이때, CAR은 항-BCMA 결합 도메인(예컨대, 인간 항-BCMA 결합 도메인), 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하며, 항-BCMA 결합 도메인은 중쇄 상보성 결정 영역 1(HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HC CDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 경쇄 상보성 결정 영역 1(LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(LC CDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, 이때, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은

(i) 각각 서열번호 86, 130, 88, 95, 131, 및 132;

(ii) 각각 서열번호 44, 45, 84, 54, 55, 및 56; 또는

(iii) 각각 서열번호 179, 180, 181, 147, 182, 및 183;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 2

항-BCMA 결합 도메인(예컨대, 인간 항-BCMA 결합 도메인), 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 단리된 CAR로서, 항-BCMA 결합 도메인은 중쇄 상보성 결정 영역 1(HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HC CDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 경쇄 상보성 결정 영역 1(LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(LC CDR3)을 포함하고, 이때, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은

(i) 각각 서열번호 86, 130, 88, 95, 131, 및 132;

(ii) 각각 서열번호 44, 45, 84, 54, 55, 및 56; 또는

(iii) 각각 서열번호 179, 180, 181, 147, 182, 및 183;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 CAR.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 86, 130, 88, 95, 131, 및 132의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 4

제3항에 있어서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은

(i) 각각 서열번호 86, 87, 88, 95, 96, 및 97;

(ii) 각각 서열번호 86, 109, 88, 95, 114, 및 115; 또는

(iii) 각각 서열번호 86, 109, 88, 95, 114, 및 97;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, VH는 서열번호 93 또는 112의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 6

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 260, 94, 또는 113의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산

서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 7

제3항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, VL는 서열번호 102, 118, 또는 124의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 8

제3항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 261, 103, 119, 또는 125의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 9

제3항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, VH 및 VL은

(i) 각각 서열번호 93 및 102;

(ii) 각각 서열번호 112 및 118; 또는

(iii) 각각 서열번호 112 및 124;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 10

제3항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 105, 120, 또는 126의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단쇄 단편 가변(scFv)을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항-BCMA 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 scFv를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 253, 106, 121, 또는 127의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 12

제3항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, CAR은 서열번호 107, 122, 또는 128의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 13

제3항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산 분자는 서열번호 259, 258, 108, 123, 또는 129의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 44, 45, 84, 54, 55, 및 56의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 15

제14항에 있어서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은

(i) 각각 서열번호 44, 45, 76, 54, 55, 및 56;

(ii) 각각 서열번호 44, 45, 46, 54, 55, 및 56; 또는

(iii) 각각 서열번호 44, 45, 68, 54, 55, 및 56;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, VH는 서열번호 78, 52, 또는 70의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 79, 53, 또는 71의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, VL은 서열번호 61의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 19

제14항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 62의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 20

제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, VH 및 VL은

(i) 각각 서열번호 78 및 61;

(ii) 각각 서열번호 52 및 61; 또는

(iii) 각각 서열번호 70 및 61;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 21

제14항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 80, 64, 또는 72의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단쇄 단편 가변(scFv)을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 22

제14항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 항-BCMA 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 scFv를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 81, 65, 또는 73의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 23

제14항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, CAR은 서열번호 82, 66, 또는 74의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 24

제14항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산 분자는 서열번호 83, 67, 또는 75의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 25

제1항 또는 제2항에 있어서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 179, 180, 181, 147, 182, 및 183의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 26

제25항에 있어서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은

(i) 각각 서열번호 137, 138, 139, 147, 148, 및 149; 또는

(ii) 각각 서열번호 160, 161, 162, 147, 170, 및 171;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 27

제25항 또는 제26항에 있어서, VH는 서열번호 145 또는 168의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 28

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산 분자는 VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 146, 또는 169의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 29

제25항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, VL은 서열번호 154 또는 173의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 30

제25항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산 분자는 VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 155, 또는 174의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 31

제25항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, VH 및 VL은

(i) 각각 서열번호 145 및 154; 또는

(ii) 각각 서열번호 168 및 173;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 32

제25항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 156 또는 175의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 단쇄 단편 가변(scFv)을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 33

제25항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 항-BCMA 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 scFv를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 157 또는 176의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 34

제25항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, CAR은 서열번호 158 또는 177의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 35

제25항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산 분자는 서열번호 159 또는 178의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, VH 및 VL은 링커에 의해 연결되고, 선택적으로 링커는 서열번호 63 또는 104의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 막관통 도메인은 T 세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 또는 CD154로부터 선택된 단백질의 막관통 도메인을 포함하거나;

(ii) 막관통 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(iii) 핵산 분자는 막관통 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 17의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 항-BCMA 결합 도메인은 힌지 영역에 의해 막관통 도메인에 연결되고, 선택적으로

(i) 힌지 영역은 서열번호 2, 3, 또는 4의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(ii) 핵산 분자는 힌지 영역을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 13, 14, 또는 15의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인은 일차 신호전달 도메인을 포함하고, 선택적으로

(i) 일차 신호전달 도메인은 CD3 제타, TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 (ICOS), Fc ε RI, DAP10, DAP12, 또는 CD66d로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하거나;

(ii) 일차 신호전달 도메인은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(iii) 핵산 분자는 일차 신호전달 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 20, 서열번호 21, 또는 서열번호 256의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고,

선택적으로

(i) 공동자극 신호전달 도메인은 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린-유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, 4-1BB(CD137), B7-H3, ICOS(CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8 베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CD100(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, CD28-OX40, CD28-4-1BB, 또는 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하거나;

(ii) 공동자극 신호전달 도메인은 서열번호 7의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(iii) 핵산 분자는 공동자극 신호전달 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 18 또는 서열번호 255의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인은 4-1BB로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인 및 CD3 제타로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하고, 선택적으로 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 7의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열) 및 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열)을 포함하고, 선택적으로 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 7의 아미노산 서열 및 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, CAR은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 리더 서열을 추가로 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, CAR은 다음 특성 중 1개 이상(예컨대, 1, 2개 또는 모두)을 포함하는 것인, 단리된 핵산 분자 또는 CAR:

(i) CAR은, 세포(예컨대, T 세포)에서 발현될 때, 예컨대, 실시예 1에 기술된 JNL 스크리닝 리포터 분석에 의해 측정 시, 예컨대, 도 1a 또는 1c와 관련하여 실시예 1에 기술된 방법을 이용하여 평가 시, BCMA 발현 세포의 존재 하에 세포에서 NFAT 신호전달을 활성화한다;

(ii) CAR은, 세포(예컨대, T 세포)에서 발현될 때, 예컨대, 도 3a와 관련하여 실시예 1에 기술된 방법을 이용하여 평가 시, BCMA 발현 세포의 세포독성을 유도한다; 그리고

(iii) CAR은, 세포(예컨대, T 세포)에서 발현될 때, 예컨대, 도 3c와 관련하여 실시예 1에 기술된 방법을 이용하여 평가 시, BCMA 발현 세포의 존재 하에 세포에서 사이토카인(예컨대, IFN-γ)의 발현을 유도한다.

청구항 44

제1항 또는 제3항 내지 제43항 중 어느 한 항의 핵산 분자에 의해 암호화되는 단리된 폴리펩티드 분자.

청구항 45

중쇄 상보성 결정 영역 1(HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HC CDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 경쇄 상보성 결정 영역 1(LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(LC CDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항-BCMA 결합 도메인으로서,

이때, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은

(i) 각각 서열번호 86, 130, 88, 95, 131, 및 132;

(ii) 각각 서열번호 44, 45, 84, 54, 55, 및 56; 또는

(iii) 각각 서열번호 179, 180, 181, 147, 182, 및 183;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-BCMA 결합 도메인.

청구항 46

제45항에 있어서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은

(i) 각각 서열번호 86, 87, 88, 95, 96, 및 97;

(ii) 각각 서열번호 44, 45, 76, 54, 55, 및 56;

(iii) 각각 서열번호 86, 109, 88, 95, 114, 및 115;

(iv) 각각 서열번호 86, 109, 88, 95, 114, 및 97;

(v) 각각 서열번호 44, 45, 46, 54, 55, 및 56;

(vi) 각각 서열번호 44, 45, 68, 54, 55, 및 56;

(vii) 각각 서열번호 137, 138, 139, 147, 148, 및 149; 또는

(viii) 각각 서열번호 160, 161, 162, 147, 170, 및 171;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-BCMA 결합 도메인.

청구항 47

제45항 또는 제46항에 있어서, VH 및 VL은

(i) 각각 서열번호 93 및 102;

(ii) 각각 서열번호 78 및 61;

(iii) 각각 서열번호 112 및 118;

(iv) 각각 서열번호 112 및 124;

(v) 각각 서열번호 52 및 61;

(vi) 각각 서열번호 70 및 61;

(vii) 각각 서열번호 145 및 154, 또는

(viii) 각각 서열번호 168 및 173;

의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-BCMA 결합 도메인.

청구항 48

제1항 또는 제3항 내지 제43항 중 어느 한 항의 핵산 분자를 포함하는 벡터, 또는 제2항 내지 제5항, 제7항, 제9항, 제10항, 제12항, 제14항 내지 제16항, 제18항, 제20항, 제21항, 제23항, 제25항 내지 제27항, 제29항, 제31항, 제32항, 제34항, 또는 제36항 내지 제43항 중 어느 한 항의 CAR을 암호화하는 핵산 분자로서, 선택적으로 벡터는 DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 또는 레트로바이러스 벡터로부터 선택되는 것인, 벡터 또는 핵산 분자.

청구항 49

제48항에 있어서, 서열번호 11의 핵산 서열을 포함하는 EF-1 프로모터를 추가로 포함하는 벡터.

청구항 50

제1항 또는 제3항 내지 제43항 중 어느 한 항의 핵산 분자, 제2항 내지 제5항, 제7항, 제9항, 제10항, 제12항, 제14항 내지 제16항, 제18항, 제20항, 제21항, 제23항, 제25항 내지 제27항, 제29항, 제31항, 제32항, 제34항, 또는 제36항 내지 제43항 중 어느 한 항의 CAR, 제44항의 폴리펩티드 분자, 또는 제48항 또는 제49항의 벡터를 포함하는 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포).

청구항 51

세포의 제조 방법으로, 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포)를 제48항 또는 제49항의 벡터로 형질도입시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 52

RNA 조작 세포의 제조 방법으로, 시험관 내 전사된 RNA 또는 합성 RNA를 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포) 내로 도입하는 단계를 포함하며, 여기서 RNA는 제1항 또는 제3항 내지 제43항 중 어느 한 항의 핵산 분자, 또는 제2항 내지 제5항, 제7항, 제9항, 제10항, 제12항, 제14항 내지 제16항, 제18항, 제20항, 제21항, 제23항, 제25항 내지 제27항, 제29항, 제31항, 제32항, 제34항, 또는 제36항 내지 제43항 중 어느 한 항의 CAR을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 것인, 방법.

청구항 53

대상체에서 항-종양 면역을 제공하는 방법으로, 대상체에게 유효량의 제50항의 세포를 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 54

BCMA의 발현과 관련된 질환을 앓는 대상체의 치료 방법으로, 대상체에게 유효량의 제50항의 세포를 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 55

제53항 또는 제54항에 있어서, 세포는 자가 T 세포 또는 동종 T 세포인 것인, 방법.

청구항 56

제54항 또는 제55항에 있어서, BCMA 발현과 관련된 질환은

(i) 골수형성이상, 골수형성이상 증후군 또는 전백혈병 중 하나 이상으로부터 선택된 암 또는 악성 종양, 또는 전암성 병태, 또는

(ii) BCMA의 발현과 관련된 비암 관련 적응증인 것인, 방법.

청구항 57

제54항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 질환은 혈액암 또는 고형 암인 것인, 방법.

청구항 58

제54항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 질환은 급성 백혈병, B-세포 급성 림프구 백혈병("BALL"), T-세포 급성 림프구 백혈병 ("TALL"), 급성 림프구 백혈병(ALL), 만성 골수 백혈병(CML), 만성 림프성 백혈병(CLL), B 세포 전림프구 백혈병, 모구 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 확산성 큰 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 모발세포 백혈병, 소세포- 또는 대세포-여포성 림프종, 악성 림프증식성 병태, MALT 림프종, 맨틀 세포 림프종, 변연부 림프종, 다발성 골수종, 골수형성이상 및 골수형성이상 증후군, 비호지킨 림프종, 형질모세포 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 전립선암(예컨대, 거세 저항성 또는 요법 저항성 전립선암 또는 전이성 전립선암), 췌장암, 폐암, 형질세포 증식성 장애(예컨대, 무증상 골수종(무증상 다발 골수종 또는 무통성 골수종), 미결정 유의성의 단일클론 감마병증(MGUS), 발덴스트롬의 마크로글로불린혈증, 형질세포종(예컨대, 형질세포 질환, 고립성 골수종, 고립성 형질세포종, 골수외 형질세포종, 및 다발성 형질세포종), 전신 아밀로이드 경쇄 아밀로이드증, 또는 POEMS 증후군(크로우·후카세 증후군, 타카츠키병, 및 PEP 증후군으로도 알려져 있음), 또는 이의 조합으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 59

제54항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 질환은 다발성 골수종인 것인, 방법.

청구항 60

제53항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 제2 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하고, 선택적으로 제2 치료제는

(i) PD-1 억제제로서, 선택적으로 PDR001, 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 피딜리주맙, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591, 및 AMP-224로 구성된 군으로부터 선택되는 PD-1 억제제;

(ii) PD-L1 억제제로서, 선택적으로 FAZ053, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두르발루맙, 및 BMS-936559로 구성된 군으로부터 선택되는 PD-L1 억제제;

(iii) LAG-3 억제제로서, 선택적으로 LAG525, BMS-986016, TSR-033, MK-4280, 및 REGN3767로 구성된 군으로부터 선택되는 LAG-3 억제제;

(iv) TIM-3 억제제로서, 선택적으로 MBG453, TSR-022, 및 LY3321367로 구성된 군으로부터 선택되는 TIM-3 억제제;

(v) CTLA-4 억제제로서, 선택적으로 이필리무맙 또는 트레멜리무맙인 CTLA-4 억제제;

(vi) 인터류킨-15(IL-15) 폴리펩티드, 인터류킨-15 수용체 알파(IL-15Ra) 폴리펩티드, 또는 IL-15 폴리펩티드와 IL-15Ra 폴리펩티드의 조합, 예를 들어, hetIL-15;

(vii) 인터류킨-12(IL-12) 폴리펩티드; 또는

(viii) mTOR 억제제로서, 선택적으로 RAD001 또는 라파마이신인 mTOR 억제제;

로부터 선택되는 것인, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] [관련 출원]

[0002] 본 출원은, 각각의 내용의 전문이 본원에 참조로 포함된, 2018년 6월 13일에 출원된 미국 일련번호 62/684,628 및 2019년 4월 12일에 출원된 미국 일련번호 62/832,991에 대한 우선권을 주장한다.

[0003] [서열 목록]

[0004] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자 제출되고, 그의 전문이 본원에 참조로 포함되는 서열 목록을 포함한다. 2019년 6월 11일자로 생성된 상기 ASCII 사본은 파일명이 N2067-7155WO_SL.txt이며, 크기가 228,604바이트이다.

[0005] [기술분야]

[0006] 일반적으로 본 발명은 B 세포 성숙 항원 단백질(BCMA)의 발현과 관련된 질환을 치료하기 위한, 키메라 항원 수용체(Chimeric Antigen Receptor; CAR)를 발현하도록 조작된 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포, NK 세포)의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] B 세포 성숙 항원(BCMA)은 B 세포 계통의 종양 괴사 패밀리 수용체(TNFR) 구성원 발현 세포이다. BCMA 발현은 최종 분화 B 세포 상에서 가장 높다. BCMA는 장기 체액성 면역을 유지시키기 위해 형질세포의 생존을 매개하는 데에 관여한다. BCMA의 발현은 최근에 다수의 암, 자가면역 장애 및 감염성 질환으로 연결되었다. BCMA 발현이 증가된 암은 일부 혈액암, 예컨대 다발성 골수종, 호지킨 및 비-호지킨 림프종, 다양한 백혈병 및 교아세포종을 포함한다.

발명의 내용

[0008] 일 양태에서, 본 발명은 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 단리된 핵산 분자를 특징으로 하며, CAR은 항-

BCMA 결합 도메인(예컨대, 인간 항-BCMA 결합 도메인, 예컨대, 본원에 기술된 인간 항-BCMA 결합 도메인), 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0009] 또 다른 양태에서, 본 발명은 단리된 CAR을 제공하며, CAR은 항-BCMA 결합 도메인(예컨대, 인간 항-BCMA 결합 도메인, 예컨대, 본원에 기술된 인간 항-BCMA 결합 도메인), 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0010] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인(예컨대, 인간 항-BCMA 결합 도메인)은 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인의 1개 이상의(예컨대, 모든 3개의) 중쇄 상보성 결정 영역 1(HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HC CDR3), 및/또는 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인의 1개 이상의(예컨대, 모든 3개의) 경쇄 상보성 결정 영역 1(LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(LC CDR3)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 본원(예컨대, 표 2, 6 또는 10)에 기술된 중쇄 가변 영역 및/또는 본원(예컨대, 표 2, 6 또는 10)에 기술된 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 표 2, 6, 또는 10의 아미노산 서열의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 scFv를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 본원(예컨대, 표 2, 6, 또는 10)에 기술된 scFv를 포함한다. 일부 구현예에서, CAR은 본원(예컨대, 표 2, 6, 또는 10)에 개시된 CAR 서열을 포함한다.

[0011] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 표 2 내지 13에 열거된 임의의 항-BMCA 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 표 2 내지 13에 열거된 임의의 항-BMCA 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다.

[0012] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 표 3 내지 5(예컨대, 표 3 내지 5의 단일 행)에 열거된 HC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 표 3 내지 5(예컨대, 표 3 내지 5의 단일 행)에 열거된 LC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 각각 서열번호 44, 45, 및 84의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 44, 45, 및 46, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 44, 45, 및 68, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 44, 45, 및 76, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0013] 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 54, 55, 및 56의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열)을 포함한다.

[0014] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 44, 45, 46, 54, 55, 및 56, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6,

또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열); (ii) 각각 서열번호 44, 45, 68, 54, 55, 및 56, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열); 또는 (iii) 각각 서열번호 44, 45, 76, 54, 55, 및 56, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열).

[0015] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 52, 70, 또는 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0016] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 53, 71, 또는 79의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0017] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0018] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VL을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 62의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0019] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하고, 이때, VH 및 VL은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 52 및 61, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 70 및 61, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 78 및 61, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0020] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 64, 72, 또는 80의 아미노산 서열을 포함하는 단쇄 단편 가변(scFv), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 단쇄 단편 가변(scFv)을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 scFv를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 65, 73, 또는 81의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0021] 일부 구현예에서, CAR은 서열번호 66, 74, 또는 82의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 서열번호 67, 75, 또는 83의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0022] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 표 7 내지 9(예컨대, 표 7 내지 9의 단일 행)에 열거된 HC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 표 7 내지 9(예컨대, 표 7 내지 9의 단일 행)에 열거된 LC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하

의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다.

[0023] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 각각 서열번호 86, 130, 및 88의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 86, 87, 및 88, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 86, 109, 및 88, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 86, 109, 및 88, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0024] 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 95, 131, 및 132의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 95, 96, 및 97, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 95, 114, 및 115, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 95, 114, 및 97, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0025] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 86, 87, 88, 95, 96, 및 97, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열); (ii) 각각 서열번호 86, 109, 88, 95, 114, 및 115, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열); 또는 (iii) 각각 서열번호 86, 109, 88, 95, 114, 및 97, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열).

[0026] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 93, 또는 112의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 260, 94, 또는 113의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0027] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 102, 118, 또는 124의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VL을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 261, 103, 119, 또는 125의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을

포함한다.

[0028] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하고, 이때, VH 및 VL은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 93 및 102, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 112 및 118, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 112 및 124, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0029] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 105, 120, 또는 126의 아미노산 서열을 포함하는 단쇄 단편 가변(scFv), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 단쇄 단편 가변(scFv)을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 scFv를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 253, 106, 121, 또는 127의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0030] 일부 구현예에서, CAR은 서열번호 107, 122, 또는 128의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 서열번호 259, 108, 123, 또는 129의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 서열번호 258의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0031] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 표 11 내지 13(예컨대, 표 11 내지 13의 단일 행)에 열거된 HC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 표 11 내지 13(예컨대, 표 11 내지 13의 단일 행)에 열거된 LC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다.

[0032] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 각각 서열번호 179, 180, 및 181의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 137, 138, 및 139, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (ii) 각각 서열번호 160, 161, 및 162, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0033] 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 147, 182, 및 183의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 147, 148, 및 149, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (ii) 각각

서열번호 147, 170, 및 171, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0034] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 137, 138, 139, 147, 148, 및 149, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열; 또는 (ii) 각각 서열번호 160, 161, 162, 147, 170, 및 171, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열.

[0035] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 145, 또는 168의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 146 또는 169의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0036] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 154 또는 173의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VL을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 155 또는 174의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0037] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하고, 이때, VH 및 VL은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 145 및 154, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (ii) 각각 서열번호 168 및 173, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0038] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 156 또는 175의 아미노산 서열을 포함하는 단쇄 단편 가변(scFv), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 단쇄 단편 가변(scFv)을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 scFv를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 157 또는 176의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0039] 일부 구현예에서, CAR은 서열번호 158 또는 177의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 서열번호 159 또는 178의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0040] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하고, 이때, VH 및 VL은 링커, 예컨대, 본원에 기술된 링커에 의해 연결되고, 선택적으로 링커는 서열번호 63 또는 104의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0041] 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 T 세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및 CD154로부터 선택된 단백질의 막관통 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약

85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 막관통 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 17의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0042] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 힌지 영역에 의해 막관통 도메인에 연결된다. 일부 구현예에서, 힌지 영역은 서열번호 2, 3, 또는 4의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 힌지 영역을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 13, 14, 또는 15의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0043] 일부 구현예에서, 막관통 도메인 및 힌지 영역은 서열번호 202의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인 및 힌지 영역은 서열번호 254의 핵산 서열, 또는 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0044] 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 일차 신호전달 도메인, 예컨대, 본원에 기술된 일차 신호전달 도메인을 포함하고, 선택적으로 일차 신호전달 도메인은 CD3 제타, TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 (ICOS), FcεRI, DAP10, DAP12, 또는 CD66d로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 일차 신호전달 도메인은 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 일차 신호전달 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 20 또는 21의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 일차 신호전달 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 256의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0045] 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 신호전달 도메인, 예컨대, 본원에 기술된 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고, 선택적으로 공동자극 신호전달 도메인은 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린-유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, 4-1BB(CD137), B7-H3, ICOS(CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CD100(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, CD28-OX40, CD28-4-1BB, 또는 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 공동자극 신호전달 도메인은 서열번호 7의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 공동자극 신호전달 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 18의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 공동자극 신호전달 도메인을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 255의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0046] 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 4-1BB로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인 및 CD3 제타로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하고, 선택적으로 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 7의 아미노산 서열

(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열) 및 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열)을 포함하고, 선택적으로 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 7의 아미노산 서열 및 서열번호 9 또는 10의 아미노산 서열을 포함한다.

[0047] 일부 구현예에서, CAR은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 리더 서열을 추가로 포함한다.

[0048] 일부 구현예에서, CAR은 다음 특성 중 1개 이상(예컨대, 1, 2개 또는 모두)을 포함한다: (i) CAR은, 세포(예컨대, T 세포)에서 발현될 때, 예컨대, 실시예 1에 기술된 JNL 스크리닝 리포터 분석에 의해 측정 시, 예컨대, 도 1a 또는 1c와 관련하여 실시예 1에 기술된 방법을 이용하여 평가 시, BCMA 발현 세포의 존재 하에 세포에서 NFAT 신호전달을 활성화한다; (ii) CAR은, 세포(예컨대, T 세포)에서 발현될 때, 예컨대, 도 3a와 관련하여 실시예 1에 기술된 방법을 이용하여 평가 시, BCMA 발현 세포의 세포독성을 유도한다; 그리고 (iii) CAR은, 세포(예컨대, T 세포)에서 발현될 때, 예컨대, 도 3c와 관련하여 실시예 1에 기술된 방법을 이용하여 평가 시, BCMA 발현 세포의 존재 하에 세포에서 사이토카인(예컨대, IFN-γ)의 발현을 유도한다.

[0049] 또 다른 양태에서, 본 발명은 중쇄 상보성 결정 영역 1(HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HC CDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 경쇄 상보성 결정 영역 1(LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(LC CDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항-BCMA 결합 도메인을 제공하며, 이때, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 본원에 개시된 CDR 아미노산 서열을 포함한다.

[0050] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 표 3 내지 5(예컨대, 표 3 내지 5의 단일 행)에 열거된 HC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 표 3 내지 5(예컨대, 표 3 내지 5의 단일 행)에 열거된 LC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 각각 서열번호 44, 45, 및 84의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 44, 45, 및 46, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 44, 45, 및 68, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 44, 45, 및 76, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0051] 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 54, 55, 및 56의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열)을 포함한다.

[0052] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 44, 45, 46, 54, 55, 및 56, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열); (ii) 각각 서열번호 44, 45, 68, 54, 55, 및 56, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는

3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열); 또는 (iii) 각각 서열번호 44, 45, 76, 54, 55, 및 56, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열).

[0053] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 52, 70, 또는 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0054] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 53, 71, 또는 79의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0055] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0056] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VL을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 62의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0057] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하고, 이때, VH 및 VL은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 52 및 61, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 70 및 61, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 78 및 61, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0058] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 표 7 내지 9(예컨대, 표 7 내지 9의 단일 행)에 열거된 HC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 표 7 내지 9(예컨대, 표 7 내지 9의 단일 행)에 열거된 LC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다.

[0059] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 각각 서열번호 86, 130, 및 88의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 86, 87, 및 88, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 86, 109, 및 88, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 86, 109, 및 88, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0060] 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 95, 131, 및 132의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 95, 96, 및 97, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 95, 114, 및 115, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 95, 114, 및 97, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0061] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 86, 87, 88, 95, 96, 및 97, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열); (ii) 각각 서열번호 86, 109, 88, 95, 114, 및 115, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열); 또는 (iii) 각각 서열번호 86, 109, 88, 95, 114, 및 97, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열).

[0062] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 93, 또는 112의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 260, 94, 또는 113의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0063] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 102, 118, 또는 124의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VL을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 261, 103, 119, 또는 125의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0064] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하고, 이때, VH 및 VL은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 93 및 102, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; (ii) 각각 서열번호 112 및 118, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (iii) 각각 서열번호 112 및 124, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0065] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 표 11 내지 13(예컨대, 표 11 내지 13의 단일 행)에 열거된 HC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 표 11 내지 13(예컨대, 표

11 내지 13의 단일 행)에 열거된 LC CDR 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)이다.

[0066] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 각각 서열번호 179, 180, 및 181의 아미노산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 137, 138, 및 139, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (ii) 각각 서열번호 160, 161, 및 162, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0067] 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 147, 182, 및 183의 아미노산 서열(또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열)을 포함한다. 일부 구현예에서, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 147, 148, 및 149, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (ii) 각각 서열번호 147, 170, 및 171, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열.

[0068] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 137, 138, 139, 147, 148, 및 149, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열; 또는 (ii) 각각 서열번호 160, 161, 162, 147, 170, 및 171, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 7, 6, 또는 5개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 서열.

[0069] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 145, 또는 168의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH를 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VH를 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 146 또는 169의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0070] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 서열번호 154 또는 173의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL), 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VL을 포함하고, 이때, 핵산 분자는 VL을 암호화하는 핵산 서열을 포함하고, 이러한 핵산 서열은 서열번호 155 또는 174의 핵산 서열, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다.

[0071] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하고, 이때, VH 및 VL은 다음의 아미노산 서열을 포함한다: (i) 각각 서열번호 145 및 154, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열; 또는 (ii) 각각 서열번호 168 및 173, 또는 이와 적어도 약 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20, 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치

환)을 갖는 아미노산 서열.

[0072] 일 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 핵산 분자에 의해 암호화된 단리된 폴리펩티드 분자를 제공한다. 일 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 핵산 분자, 또는 본원에 기술된 CAR을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 구현예에서, 벡터는 DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 또는 레트로바이러스 벡터로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 벡터는 서열번호 11의 핵산 서열을 포함하는 EF-1 프로모터를 포함한다. 일 양태에서, 본 발명은 본원에 기술된 핵산 분자, 본원에 기술된 CAR, 본원에 기술된 폴리펩티드 분자, 또는 본원에 기술된 벡터를 포함하는 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포)를 제공한다. 일부 구현예에서, 세포는 세포내 신호전달 도메인으로부터의 양성 신호를 포함하는 제2 폴리펩티드와 회합된 억제성 분자의 적어도 일부를 포함하는 제1 폴리펩티드를 포함하는 억제성 작용제를 추가로 발현하고, 선택적으로 억제성 작용제는 PD-1의 적어도 일부를 포함하는 제1 폴리펩티드 및 공동자극 도메인 및 일차 신호전달 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다.

[0073] 일 양태에서, 본 발명은 세포의 제조 방법을 제공하며, 이는 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포)를 본원에 기술된 벡터로 형질도입시키는 단계를 포함한다. 일 양태에서, 본 발명은 RNA 조작 세포의 제조 방법을 제공하며, 이는 시험관 내 전사된 RNA 또는 합성 RNA를 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포) 내로 도입하는 단계를 포함하며, 여기서 RNA는 본원에 기술된 핵산 분자, 또는 본원에 기술된 CAR을 암호화하는 핵산 분자를 포함한다.

[0074] 일 양태에서, 본 발명은 대상체에서 항-종양 면역을 제공하는 방법을 제공하며, 이는 대상체에게 유효량의 본원에 기술된 세포를 투여하는 단계를 포함한다. 일 양태에서, 본 발명은 BCMA의 발현과 관련된 질환을 앓는 대상체의 치료 방법을 제공하며, 이는 대상체에게 유효량의 본원에 기술된 세포를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 자가 T 세포 또는 동종 T 세포이다. 일부 구현예에서, BCMA 발현과 관련된 질환은 (i) 골수형성이상, 골수형성이상 증후군 또는 전백혈병 중 하나 이상으로부터 선택된 암 또는 악성 종양, 또는 전암성 병태, 또는 (ii) BCMA의 발현과 관련된 비암 관련 적응증이다. 일부 구현예에서, 질환은 혈액암 또는 고형 암이다. 일부 구현예에서, 질환은 다음으로부터 선택된다: 급성 백혈병, B-세포 급성 림프구 백혈병("BALL"), T-세포 급성 림프구 백혈병 ("TALL"), 급성 림프구 백혈병(ALL), 만성 골수 백혈병(CML), 만성 림프성 백혈병(CLL), B 세포 전림프구 백혈병, 모구 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 확산성 큰 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 모발세포 백혈병, 소세포- 또는 대세포-여포성 림프종, 악성 림프증식성 병태, MALT 림프종, 맨틀 세포 림프종, 변연부 림프종, 다발성 골수종, 골수형성이상 및 골수형성이상 증후군, 비-호지킨 림프종, 형질모세포 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 전립선암(예컨대, 거세 저항성 또는 요법 저항성 전립선암 또는 전이성 전립선암), 췌장암, 폐암, 형질세포 증식성 장애(예컨대, 무증상 골수종(무증상 다발 골수종(smoldering multiple myeloma) 또는 무통성 골수종), 미결정 유의성의 단일클론 감마병증(MGUS), 발덴스트롬의 마크로글로불린혈증, 형질세포종(예컨대, 형질세포 질환, 고립성 골수종, 고립성 형질세포종, 골수외 형질세포종, 및 다발성 형질세포종), 전신 아밀로이드 경쇄 아밀로이드증, 또는 POEMS 증후군(크로우·후카세 증후군(Crow-Fukase syndrome), 타카츠키병(Takatsuki disease), 및 PEP 증후군으로도 알려져 있음), 또는 이의 조합. 일부 구현예에서, 질환은 다발성 골수종이다. 일부 구현예에서, 방법은 대상체에게 제2 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 PD-1 억제제이고, 선택적으로 PD-1 억제제는 PDR001, 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 피딜리주맙, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591, 및 AMP-224로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 PD-L1 억제제이고, 선택적으로 PD-L1 억제제는 FAZ053, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두르발루맙, 및 BMS-936559로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 LAG-3 억제제이고, 선택적으로 LAG-3 억제제는 LAG525, BMS-986016, TSR-033, MK-4280, 및 REGN3767로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 TIM-3 억제제이고, 선택적으로 TIM-3 억제제는 MBG453, TSR-022, 및 LY3321367로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 CTLA-4 억제제이고, 선택적으로 CTLA-4 억제제는 이필리무맙 또는 트레멜리무맙이다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 인터류킨-15(IL-15) 폴리펩티드, 인터류킨-15 수용체 알파(IL-15Ra) 폴리펩티드, 또는 IL-15 폴리펩티드와 IL-15Ra 폴리펩티드의 조합, 예를 들어, hetIL-15이다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 인터류킨-12(IL-12) 폴리펩티드이다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 mTOR 억제제이고, 선택적으로 mTOR 억제제는 RAD001 또는 라파마이신이다.

[0075] 본원에 개시된 항-BCMA 결합 도메인 및 이러한 항-BCMA 결합 도메인을 포함하는 CAR은 이전의 항-BCMA 결합도메인 및 이를 포함하는 CAR에 비해 개선된 특성, 예를 들어, BCMA에 대한 증가된 결합 친화도, 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포)에서의 증가된 CAR 발현 수준, 및/또는 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포)의 세포독성 및/또는 사이토카인 생산을 매개하는 증진된 능력을 갖는다.

[0076] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속한 기술 분야의 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 재료를 이하 설명한다. 본원에서 언급되는 모든 간행물, 특허 출원, 특허, 및 다른 참고문헌은 그 전문이 참조로 포함된다. 또한, 재료, 방법, 및 실시예는 단지 예시적인 것이며, 제한하려는 것이 아니다. 표제, 하위표제 또는 번호를 매기거나 문자를 붙인 요소, 예컨대, (a), (b), (i) 등은 단순히 이해의 편의를 위해 제시된 것이다. 본 문서에서 표제 또는 번호를 매기거나 문자를 붙인 요소의 사용은 단계 또는 요소가 알파벳 순서로 수행될 것 또는 단계 또는 요소가 반드시 서로 개별적일 것을 요구하지 않는다. 본 발명의 기타 특징, 목적 및 장점은 이러한 설명 및 도면으로부터, 그리고 청구항으로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0077] **도 1a 내지 도 1h.** 자동화 시스템을 이용한 Jurkat NFAT 루시퍼라제(JNL) 리포터 분석을 이용하여 BCMA CAR의 기능을 시험하였다. CAR 클론을 항원 의존적 활성에 대해 JNL 리포터 분석에서 평가하였다. 지시된 CAR 클론을 함유하는 JNL 세포 또는 형질도입되지 않은 JNL 세포(UTD)를 배지 단독(도 1g 및 도 1h) 또는 상이한 비율의 표적 세포주(BCMA 양성 세포주로서 KMS11(도 1a 및 도 1c) 및 BCMA 음성 세포주로서 NALM6(도 1e 및 도 1f))와 공동 배양하였고, 루시퍼라제 활성을 발광 강도로 측정하였다. 항원 발현 세포의 존재 하에 발광 강도가 UTD 세포 수준의 2배를 초과할 때 클론이 활성인 것으로 간주되었다. 발광 판독치는 CAR 자극의 직접적인 척도이다. 도 1b 및 도 1d는 인간 재조합 (r)BCMA_Fc-AF647을 이용하여 유세포 분석법에 의해 검출한, JNL 세포에서의 BCMA CAR의 발현 수준을 보여주는 그래프이다. 1x 또는 2x 플랫폼은 바이러스 생성을 위해 시딩된 40,000개의 H293 세포 또는 80,000개의 H293 세포를 나타내었다.

도 2. 일차 인간 T 세포에서의 BCMA CAR의 발현 수준. 세포를 인간 rBCMA_Fc-AF647 시약으로 염색하고, 유세포 분석법으로 분석하였다. 세포 배양의 제5일 및 제9일에 대해 CAR+ 세포의 백분율 및 MFI가 그래프에 제시되어 있다. 데이터는 표 17에 요약되어 있으며, 이는 각각의 CAR에 대해 달성된 바이러스 역가를 포함한다.

도 3a 내지 도 3c. 표시된 CAR을 발현하는 T 세포의 세포 용해 및 사이토카인 생산을 매개하는 능력을 반딧불이 루시퍼라제를 발현하는 KMS11 표적 세포주(KMS11-luc)에 대해 평가하였다. 도 3a: CART 세포를 표시된 E:T 비율의 KMS11-luc 표적 세포와 공동 배양하였다. 대조군의 백분율로서 표시된, 이펙터 T 세포가 없는 표적 세포(대조군) 및 이펙터 T 세포가 있는 표적 세포(실험군) 사이의 루시퍼라제 신호의 차이에 의해 세포 사멸(%)을 결정하였다. UTD는 형질도입되지 않은 T 세포를 나타낸다. 도 3b: 배경 사멸은 BCMA 음성 세포주 NALM6에 대해 관찰되었다. 도 3c: 2.5의 E:T 비율의 이러한 공동 배양 시스템으로부터 24h에 수집된 상청액에서의 MSD에 의해 IFN γ를 측정하였다. 모든 데이터는 평균 +/- 표준 편차로서 표시되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0078] **정의**

[0079] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0080] 용어 "a" 및 "an"의 관사는 1개 또는 1개 초과의(즉, 적어도 1개의) 관사의 문법적 대상을 나타낸다. 예로서, "요소"는 1개의 요소 또는 1개 초과의 요소를 의미한다.

[0081] 용어 "약"은, 측정 가능한 값, 예컨대 양, 기간 등을 언급하는 경우에 명시된 값으로부터 ±20%, 또는 일부 경우에 ±10%, 또는 일부 경우에 ±5%, 또는 일부 경우에 ±1%, 또는 일부 경우에 ±0.1%의 변동을 포괄함을 의미하고, 이는 이러한 변동이 개시된 방법의 수행에 적절하기 때문이다.

[0082] 본 발명의 조성물 및 방법은 특정된 서열, 또는 이와 실질적으로 동일하거나 유사한 서열, 예를 들어, 특정된 서열과 적어도 85%, 90%, 또는 95% 이상 동일한 서열을 갖는 폴리펩티드 및 핵산을 포함한다. 아미노산 서열의 맥락에서, 용어 "실질적으로 동일한"은 제1 및 제2 아미노산 서열이 공통 구조적 도메인 및/또는 공통 기능 활성을 가질 수 있도록 제2 아미노산 서열 내 정렬된 아미노산 잔기와 i) 동일하거나 ii) 이의 보존적 치환인 아미노산 잔기의 충분한 수 또는 최소 수를 함유하는 제1 아미노산 서열, 예를 들어, 기준 서열, 예컨대, 본원에 제공된 서열과 적어도 약 85%, 90%. 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 공통 구조적 도메인을 함유하는 아미노산 서열을 지칭하는 데 사용된다.

[0083] 뉴클레오티드 서열의 맥락에서, 용어 "실질적으로 동일한"은 제1 및 제2 뉴클레오티드 서열이 공통 기능 활성을 갖는 폴리펩티드를 암호화하거나, 공통 구조적 폴리펩티드 도메인 또는 공통 기능적 폴리펩티드 활성을 암호화하도록 제2 핵산 서열 내 정렬된 뉴클레오티드와 동일한 뉴클레오티드의 충분한 수 또는 최소 수를 함유하는 제1 핵산 서열, 예를 들어, 기준 서열, 예컨대, 본원에 제공된 서열과 적어도 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 지칭하는 데 사용된다.

[0084] 용어 "변이체"는 기준 아미노산 서열과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖거나 실질적으로 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 구현예에서, 변이체는 기능적 변이체이다.

[0085] 용어 "기능적 변이체"는 기준 아미노산 서열과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖거나 실질적으로 동일한 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되고, 기준 아미노산 서열의 하나 이상의 활성을 가질 수 있는 폴리펩티드를 지칭한다.

[0086] 본원에서 사용된 용어 "BCMA"는 B-세포 성숙 항원을 지칭한다. (TNFRSF17, BCM 또는 CD269로도 알려져 있는) BCMA는 종양 괴사 수용체(TNFR) 패밀리의 구성원이고, 최종 분화 B 세포, 예를 들어 기억 B 세포 및 형질세포 상에서 우세하게 발현된다. 그것의 리간드는 TNF 패밀리의 B 세포 활성제(BAFF) 및 증식 유도 리간드(APRIL)라 지칭된다. BCMA는 장기 체액성 면역을 유지시키기 위해 형질세포의 생존을 매개하는 데에 관여한다. BCMA에 대한 유전자는 염색체 16 상에 암호화되어 있고, 이는 184개 아미노산의 단백질(NP_001183.2)을 암호화하는 994개 뉴클레오티드 길이의 1차 mRNA 전사체(NCBI 수탁 NM_001192.2)를 생산한다. BCMA 유전자좌로부터 유래된 제2 안티센스 전사체는 설명된 바 있는데, 이는 BCMA 발현을 조절하는 역할을 할 수 있다 (Laabi Y. et al., Nucleic Acids Res., 1994, 22:1147-1154). 추가적인 전사체 변이체가 유의성 공지 없이 설명된 바 있다(Smirnova AS et al. Mol Immunol., 2008, 45(4):1179-1183). TV4로도 알려져 있는 제2의 이소형이 확인된 바 있다(UniProt 식별자 Q02223-2). 본원에서 사용된 "BCMA"는 전체 길이의 야생형 BCMA의 돌연변이, 예를 들어 점 돌연변이, 단편, 삽입, 결실 및 스플라이스 변이체를 포함하는 단백질을 포함한다.

[0087] 용어 "키메라 항원 수용체" 또는 대안적으로 "CAR"은 적어도 세포외 항원 결합 도메인, 막관통 도메인 및 하기에서 정의되는 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 신호전달 도메인(본원에서 "세포내 신호전달 도메인"으로도 언급됨)을 포함하는 재조합 폴리펩티드 구축물을 지칭한다. 일부 구현예에서, CAR 폴리펩티드 구축물 내의 도메인은 동일한 폴리펩티드 쇄 내에 존재하며, 예를 들어 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, CAR 폴리펩티드 구축물 내의 도메인은 서로 인접하지 않고, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 RCAR에 제공된 바와 같이, 예를 들어 상이한 폴리펩티드 쇄 내에 존재한다.

[0088] 일 양태에서, 세포질 신호전달 도메인은 일차 신호전달 도메인(예를 들어 CD3-제타의 일차 신호전달 도메인)을 포함한다. 일 양태에서, 세포질 신호전달 도메인은 아래에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 공동자극 분자로부터 유래된 하나 이상의 기능적 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 일 양태에서, 공동자극 분자는 41BB(즉, CD137), CD27, ICOS 및/또는 CD28로부터 선택된다. 일 양태에서, CAR은 세포외 항원 인식 도메인, 막관통 도메인, 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일 양태에서, CAR은 세포외 항원 인식 도메인, 막관통 도메인 및 공동자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일 양태에서, CAR은 세포외 항원 인식 도메인, 막관통 도메인, 및 하나 이상의 공동자극 분자(들)로부터 유래된 2개의 기능적 신호전달 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일 양태에서, CAR은 세포외 항원 인식 도메인, 막관통 도메인, 및 하나 이상의 공동자극 분자(들)로부터 유래된 적어도 2개의 기능적 신호전달 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일 양태에서, CAR은 CAR 융합 단백질의 아미노-말단(N-ter)에서 선택적인 리더 서열을 포함한다. 일 양태에서, CAR은 세포외 항원 인식 도메인의 N-말단에 리더 서열을 추가로 포함하고, 리더 서열은 선택적으로 CAR의 세포 처리 및 세포막으로의 국소화 중에 항원 인식 도메인(예를 들어 scFv)으로부터 절단된다.

[0089] 특정 종양 마커 X(이때, X는 본원에 기술된 종양 마커일 수 있음)를 표적화하는, 항원 결합 도메인(예컨대, scFv, 단일 도메인 항체, 또는 TCR(예컨대, TCR 알파 결합 도메인 또는 TCR 베타 결합 도메인))을 포함하는 CAR은 XCAR로도 지칭된다. 예를 들어, BCMA를 표적화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR은 BCMA CAR로 지칭된다. CAR은 임의의 세포, 예컨대, 본원에 기술된 면역 이펙터 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포)에서 발현될 수 있다.

[0090] 용어 "신호전달 도메인"은 제2 메신저를 생성하거나 이러한 메신저에 반응하여 이펙터로서 기능함으로써 규정된 신호전달 경로를 통해 세포 활성을 조절하기 위하여 정보를 세포 내에서 전달하는 것에 의해 작용하는 단백질의 기능적 부분을 지칭한다.

[0091] 본원에서 사용된 용어 "항체"는 항원과 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자로부터 유래된 단백질, 또는 폴리펩티드 서열을 지칭한다. 항체는 다클론 또는 단클론, 다중 또는 단일 쇄, 또는 온전한 면역글로불린일 수 있고, 천연 공급원으로부터 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 항체는 면역글로불린 분자의 사량체일 수 있다.

[0092] 용어 "항체 단편"은 온전한 항체 또는 그의 재조합 변이체의 적어도 일 부분을 지칭하며, 항원 결합 도메인, 예를 들어 표적, 예컨대 항원으로의 항체 단편의 인식 및 특이적인 결합을 부여하기에 충분한 온전한 항체의 항원 결정 가변 영역을 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')2 및 Fv 단편, scFv 항체 단편, 선형 항체, 단일 도메인 항체, 예컨대 sdAb(VL 또는 VH), 낙타류 VHH 도메인, 및 항체 단편, 예컨대 힌지 영역에서 이황화 가교에 의해 연결된 2개 이상, 예컨대, 2개의 Fab 단편, 또는 2개 이상, 예컨대, 2개의 단리된 CDR 또는 연결된 항체의 다른 에피토프 결합 단편을 포함하는 2가 단편으로부터 형성된 다중특이적 분자를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 항체 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv 내에 혼입될 수 있다(예를 들어, 문헌[Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005] 참조). 항체 단편은 또한 피브로넥틴 III형(Fn3)과 같은 폴리펩티드를 기반으로 한 스캐폴드에 이식될 수 있다(피브로넥틴 폴리펩티드 미니바디를 기술한 미국 특허 제6,703,199호 참조).

[0093] 용어 "scFv"는 경쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 하나의 항체 단편 및 중쇄의 가변 영역을 포함하는 적어도 하나의 항체 단편을 포함하는 융합 단백질을 지칭하며, 여기서 경쇄 및 중쇄 가변 영역은 짧은 유연성 폴리펩티드 링커를 통해 인접하여 연결되고, 단일 쇄 폴리펩티드로서 발현될 수 있고, 여기서 scFv는 그것이 유래된 온전한 항체의 특이성을 보유한다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에서 사용된 scFv는, 예를 들어 폴리펩티드의 N-말단 및 C-말단에 대해, 임의의 순서로 VL 가변 영역 및 VH 가변 영역을 가질 수 있고, scFv는 VL-링커-VH를 포함하거나 VH-링커-VL을 포함할 수 있다.

[0094] 본원에서 사용된 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 항원 특이성 및 결합 친화도를 부여하는 항체 가변 영역 내의 아미노산의 서열을 지칭한다. 예를 들어, 일반적으로 각각의 중쇄 가변 영역 내에 3개의 CDR(예를 들어 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3)이 존재하고 각각의 경쇄 가변 영역 내에 3개의 CDR(LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3)이 존재한다. 주어진 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌[Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD]("Kabat" 넘버링 스킴), 문헌[Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948]("Chothia" 넘버링 스킴)에 기술된 것들, 또는 이들의 조합을 비롯하여, 잘 알려진 다수의 스킴 중 임의의 것을 사용하여 결정될 수 있다. 조합된 Kabat 및 Chothia 넘버링 스킴에서, 일부 구현예에서, CDR은 Kabat CDR, Chothia CDR, 또는 둘 다의 일부인 아미노산 잔기에 상응한다.

[0095] 항체 또는 이의 항체 단편을 포함하는 본 발명의 CAR 조성물의 부분은 예를 들어, 항원 결합 도메인이 예를 들어 단일 도메인 항체 단편(sdAb), 단쇄 항체(scFv), 또는 예를 들어, 인간 또는 인간화 항체를 포함하는 폴리펩티드 쇄의 일부로서 발현되는 다양한 형태로 존재할 수 있다(문헌[Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY]; 문헌[Harlow et al., 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York]; 문헌[Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883]; 문헌[Bird et al., 1988, Science 242:423-426]). 일 양태에서, 본 발명의 CAR 조성물의 항원 결합 도메인은 항체 단편을 포함한다. 추가 양태에서, CAR은 scFv를 포함하는 항체 단편을 포함한다.

[0096] 본원에서 사용된 용어 "결합 도메인" 또는 "항체 분자"(본원에서 "항-표적 결합 도메인"으로도 지칭됨)는 적어도 1개의 면역글로불린 가변 도메인 서열을 포함하는 단백질, 예를 들어 면역글로불린 쇄 또는 이의 단편을 지칭한다. 용어 "결합 도메인" 또는 "항체 분자"는 항체 및 항체 단편을 포괄한다. 일 구현예에서, 항체 분자는 다중특이적 항체 분자이고, 예를 들어 그것은 복수의 면역글로불린 가변 도메인 서열을 포함하며, 이때, 복수의 서열 중 제1 면역글로불린 가변 도메인 서열은 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖고, 복수의 서열 중 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는다. 일 구현예에서, 다중특이적 항체 분자는 이중특이적 항체 분자이다. 이중특이적 항체는 2개 이하의 항원에 대해 특이성을 갖는다. 이중특이적 항

체 분자는 제1 에피토프에 대하여 결합 특이성을 갖는 제1 면역글로불린 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대하여 결합 특이성을 갖는 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다.

[0097] 용어 "항체 중쇄"는 자연 발생 입체형태의 항체 분자에 존재하고 통상적으로 항체가 속하는 부류를 결정하는, 2가지 유형의 폴리펩티드 쇄 중 더 큰 것을 지칭한다.

[0098] 용어 "항체 경쇄"는 자연 발생 입체형태의 항체 분자에 존재하는 2가지 유형의 폴리펩티드 쇄 중 더 작은 것을 지칭한다. 카파(κ) 및 람다(λ) 경쇄는 2개의 주요 항체 경쇄 이소형을 지칭한다.

[0099] 용어 "재조합 항체"는 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성된 항체, 예컨대, 예를 들어 박테리오파지 또는 효모 발현 시스템에 의해 발현된 항체를 지칭한다. 이 용어는 또한 항체를 암호화하는 DNA 분자의 합성에 의해 생성된 항체를 의미하는 것으로 해석되어야 하고, DNA 분자는 항체 단백질, 또는 항체를 특정하는 아미노산 서열을 발현하며, 여기서 DNA 또는 아미노산 서열은 당해 분야에서 이용 가능하고 잘 알려진 재조합 DNA 또는 아미노산 서열 기술을 사용하여 수득되었다.

[0100] 용어 "항원" 또는 "Ag"는 면역 반응을 유발하는 분자를 지칭한다. 이러한 면역 반응은 항체 생성, 또는 특이적 면역 적격(competent) 세포의 활성화, 또는 이들 둘 다를 수반할 수 있다. 숙련자는 사실상 모든 단백질 또는 펩티드를 포함하는 임의의 마크로분자가 항원으로서의 역할을 할 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 항원은 재조합 또는 게놈 DNA로부터 유래될 수 있다. 따라서, 숙련자는 면역 반응을 유도하는 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 또는 부분적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 임의의 DNA가, 본 명세서에서 사용되는 용어 "항원"을 암호화함을 이해할 것이다. 또한, 당업자는 항원이 유전자의 전장 뉴클레오티드 서열에 의해서만 암호화될 필요는 없음을 이해할 것이다. 본 발명은 1개 초과의 유전자의 부분적인 뉴클레오티드 서열의 사용을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니고, 이들 뉴클레오티드 서열은 원하는 면역 반응을 유도하는 폴리펩티드를 암호화하도록 다양한 조합으로 배열되는 것이 분명하다. 또한, 숙련자는 항원이 "유전자"에 의해 암호화될 필요가 전혀 없음을 이해할 것이다. 항원은 합성되어 생성될 수 있거나 또는 생물학적 샘플로부터 유래될 수 있거나, 또는 폴리펩티드 이외의 마크로분자일 수 있음이 분명하다. 이러한 생물학적 샘플은 조직 샘플, 종양 샘플, 세포 또는 다른 생물학적 성분을 갖는 유체를 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0101] 용어 "항종양 효과"는, 예를 들어 종양 부피의 감소, 종양 세포 수의 감소, 전이의 수의 감소, 기대 수명의 증가, 종양 세포 증식의 감소, 종양 세포 생존의 감소, 또는 암성 병태와 관련된 다양한 생리학적 증상의 개선을 포함하지만 이에 한정되지는 않는, 다양한 수단에 의해 나타날 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. "항종양 효과"는 또한 먼저 종양 발생의 예방에서의 본 발명의 펩티드, 폴리뉴클레오티드, 세포 및 항체의 능력에 의해 나타날 수 있다.

[0102] 용어 "항암 효과"는, 예를 들어 종양 부피의 감소, 암 세포 수의 감소, 전이의 수의 감소, 기대 수명의 증가, 암 세포 증식의 감소, 암 세포 생존의 감소, 또는 암성 병태와 관련된 다양한 생리학적 증상의 개선을 포함하지만 이에 한정되지는 않는, 다양한 수단에 의해 나타날 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. "항암 효과"는 또한 먼저 암 발생의 예방에서의 펩티드, 폴리뉴클레오티드, 세포 및 항체의 능력에 의해 나타날 수 있다. 용어 "항종양 효과"는, 예를 들어 종양 부피의 감소, 종양 세포 수의 감소, 종양 세포 증식의 감소, 또는 종양 세포 생존의 감소를 포함하지만 이에 한정되지는 않는, 다양한 수단에 의해 나타날 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. 용어 "자가"는 이후에 개체에게 재도입될, 동일한 개체로부터 유래된 임의의 물질을 지칭한다.

[0103] 용어 "동종"은 물질이 도입되는 개체와 동일한 종의 상이한 동물로부터 유래된 임의의 물질을 지칭한다. 하나 이상의 유전자좌에서의 유전자가 동일하지 않은 경우에 둘 이상의 개체는 서로 동종이계라 한다. 일부 양태에서, 동일한 종의 개체로부터의 동종이계 물질은 항원과 관련하여 상호작용하기에 유전적으로 충분히 다를 수 있다.

[0104] 용어 "이종"은 상이한 종의 동물로부터 유래된 이식편을 지칭한다.

[0105] 본원에서 사용된 용어 "분리반출술"은 공여자 또는 환자의 혈액을 공여자 또는 환자에서 제거하고, 선택된 특정한 구성성분(들)을 분리하는 장치를 통과시켜, 나머지를 예를 들어 재수혈에 의해 공여자 또는 환자의 순환으로 되돌리는 당해 분야에서 인정된 체외 절차를 지칭한다. 따라서, 맥락상 "분리반출술 샘플"은 분리반출술을 사용하여 수득된 샘플을 지칭한다.

[0106] 용어 "암"은 비정상 세포의 급속하고 제어되지 않은 성장을 특징으로 하는 질환을 지칭한다. 암 세포는 국소적으로 또는 혈류 및 림프계를 통해 신체의 다른 부분으로 확산될 수 있다. 다양한 암의 예가 본 명세서에 기술되어 있고, 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 췌장암, 결장직장암, 신암, 간암, 뇌암, 림프종, 백

혈병, 폐암 등을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 본원에 기술된 방법에 의해 치료되는 바람직한 암은 다발성 골수종, 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종을 포함한다.

[0107] 용어 "종양" 및 "암"은 본원에서 상호 교환적으로 사용되며, 예를 들어 이들 둘 다의 용어는 고형 및 액상, 예를 들어 미만성 또는 순환성 종양을 포괄한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "암" 또는 "종양"은 악성뿐만 아니라 전암성 암 및 종양을 포함한다.

[0108] 본 명세서에서 사용되는 용어 "~로부터 유래되는"은 제1 분자와 제2 분자 사이의 관계를 나타낸다. 이것은 일반적으로 제1 분자와 제2 분자 사이의 구조적 유사성을 지칭하며, 제2 분자로부터 유래되는 제1 분자에 대한 공정 또는 공급원 상의 제한은 내포하지 않거나 포함하지 않는다. 예를 들어, CD3제타 분자로부터 유래되는 세포내 신호전달 도메인의 경우, 세포내 신호전달 도메인은 요구되는 기능, 즉, 적절한 조건 하에 신호를 생성하는 능력을 갖도록 하기에 충분한 CD3제타 구조를 보유한다. 이것은 세포내 신호전달 도메인의 특정한 생성 방법에 대한 제한을 내포하지 않거나 포함하지 않으며, 예를 들어, 이것은 세포내 신호전달 도메인을 제공하기 위하여 CD3제타 서열로 시작하여 원하지 않는 서열을 결실시키거나, 또는 돌연변이를 시행하여, 세포내 신호전달 도메인에 도달해야 함을 의미하는 것이 아니다.

[0109] 어구 "BCMA의 발현과 관련된 질환"은, 예를 들어 증식성 질환, 예컨대 암 또는 악성 종양 또는 전암성 병태, 예컨대 골수형성이상, 골수형성이상 증후군 또는 전백혈병을 비롯하여 BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)를 발현하는 세포와 관련된 질환 또는 BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)를 발현하는 세포와 관련된 병태; 또는 BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)를 발현하는 세포와 관련된 비암 관련 적응증을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 의심을 피하기 위해, BCMA의 발현과 관련된 질환은 예를 들어 BCMA를 표적화하는 분자, 예를 들어 본원에 기술된 BCMA 억제제에 의한 처리로 인해 예를 들어 BCMA 발현이 하향조절되었기 때문에 현재는 BCMA를 발현하지 않지만, 한 때는 BCMA을 발현하였던 세포와 관련된 병태를 포함할 수 있다. 일 양태에서, BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)의 발현과 관련된 암은 혈액암이다. 일 양태에서, 혈액암은 백혈병 또는 림프종이다. 일 양태에서, BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)의 발현과 관련된 암은 분화된 형질 B 세포의 악성 종양이다. 일 양태에서, BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)의 발현과 관련된 암은 예를 들어 B 세포 급성 림프성 백혈병("BALL"), T 세포 급성 림프성 백혈병("TALL"), 급성 림프성 백혈병(ALL)을 포함하나 이에 한정되지 않는 1종 이상의 급성 백혈병; 예를 들어, 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 림프성 백혈병(CLL)을 포함하나 이에 한정되지 않는 1종 이상의 만성 백혈병을 포함하나 이에 한정되지 않는 암 및 악성 종양을 포함한다. BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)의 발현과 관련된 추가적인 암 또는 혈액 병태는, 예를 들어, B 세포 전림프구성 백혈병, 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 모발상 세포 백혈병, 소세포- 또는 대세포-여포성 림프종, 악성 림프증식성 병태, MALT 림프종, 맨틀 세포 림프종, 변연부 림프종, 다발성 골수종, 골수이형성증 및 골수이형성 증후군, 비-호지킨 림프종, 형질모세포성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 및 골수성 혈액 세포의 비효과적인 생산(또는 이형성증)에 의해 통합된 다양한 혈액 병태의 집합인 "전백혈병" 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 암은 다발성 골수종, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 또는 아교모세포종이다. 구현예에서, BCMA의 발현과 관련된 질환은 형질세포 증식성 장애, 예를 들어 무증상 골수종(무증상 다발 골수종 또는 무통성 골수종), 미결정 유의성의 단일클론 감마병증(MGUS), 발덴스트롬의 마크로글로불린혈증, 형질세포종(예를 들어, 형질세포 질환, 고립성 골수종, 고립성 형질세포종, 골수외 형질세포종, 및 다발성 형질세포종), 전신 아밀로이드 경쇄 아밀로이드증, 및 POEMS 증후군(크로우·후카세 증후군, 타카츠키병, 및 PEP 증후군으로도 알려져 있음)을 포함한다. BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)의 발현과 관련된 추가의 질환은, 예를 들어 BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)의 발현과 관련된 비정형 및/또는 비전형 암, 악성 종양, 전암성 병태 또는 증식성 질환, 예를 들어, 본원에 기술된 암, 예컨대, 전립선암(예컨대, 거세 저항성 또는 요법 저항성 전립선암, 또는 전이성 전립선암), 췌장암, 또는 폐암을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0110] BCMA(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체 BCMA)와 관련된 비암 관련 병태는 바이러스 감염; 예를 들어, HIV, 진균 감염, 예를 들어, C. 네오포르만스(*neoformans*); 자가면역 질환; 예를 들어 류마티스 관절염, 전신 홍반성 루푸스(SLE 또는 루푸스), 심상성 천포창 및 쇼그렌 증후군; 염증성 장 질환, 궤양성 대장염; 점막 면역과 관련된 이식 관련 동종특이적 면역 장애; 및 체액성 면역이 중요한 생물제제(예를 들어, 인자 VIII)에 대한 원치 않는 면역 반응을 포함한다. 구현예에서, BCMA의 발현과 관련된 비암 관련 적응증은 예를 들어 자가면역 질환, (예를 들어, 루푸스), 염증성 장애(알레르기 및 천식) 및 이식을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 종양 항원 발현 세포는 종양 항원을 암호화하는 mRNA를 발현하거나 또는 임의의 시점에 발현하였다. 일

구현예에서, 종양 항원 발현 세포는 종양 항원 단백질(예를 들어, 야생형 또는 돌연변이체)을 생산하고, 종양 항원 단백질은 정상 수준 또는 감소된 수준으로 존재할 수 있다. 일 구현예에서, 종양 항원 발현 세포는 종양 항원 단백질을 한 시점에 검출 가능한 수준으로 생산하였고, 이후에 실질적으로 검출 가능하지 않은 종양 항원 단백질을 생산하였다.

[0111] 용어 "보존적 서열 변형"은 아미노산 서열을 포함하는 항체 또는 항체 단편의 결합 특성에 대한 영향이나 변경이 크지 않은 아미노산 변형을 의미한다. 이러한 보존적 변형에는 아미노산 치환, 부가 및 결실이 포함된다. 변형은 당해 분야에 공지된 표준 기술, 예컨대 위치 지정 돌연변이유발 및 PCR 매개 돌연변이유발에 의해 본 발명의 항체 또는 항체 단편 내에 도입될 수 있다. 보존적 치환은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 당해 분야에 정의되어 있다. 이들 패밀리에는 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타 분지형 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신), 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산이 포함된다. 따라서, 본 발명의 CAR 내의 하나 이상의 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있고, 변경된 CAR은 본원에 기술된 기능적 분석법을 사용하여 테스트될 수 있다.

[0112] 용어 "자극"은 자극 분자(예를 들어 TCR/CD3 복합체)가 그의 동족 리간드와 결합하여 신호 전달 사건, 예컨대 TCR/CD3 복합체를 통한 신호 전달(그러나 이에 한정되지 않음)을 매개함으로써 유도되는 일차 반응을 지칭한다. 자극은 특정 분자의 변경된 발현, 예컨대 TGF-β의 하향조절 및/또는 세포골격 구조의 재조직화 등을 매개할 수 있다.

[0113] 용어 "자극 분자"는 T 세포 신호전달 경로의 적어도 일부 측면에 대한 자극 방식에서 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절하는 1차 세포질 신호전달 서열(들)을 제공하는 T 세포에 의해 발현되는 분자를 지칭한다. 일부 구현예에서, CAR 내의 ITAM 함유 도메인은 내인성 TCR 복합체와 무관하게 1차 TCR의 신호전달을 반복한다. 일 양태에서, 1차 신호는 예를 들어 펩티드가 로딩된 MHC 분자와 TCR/CD3 복합체의 결합에 의해 개시되고, 이는 증식, 활성화, 분화 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 T 세포 반응의 매개를 야기한다. 자극 방식으로 작용하는 일차 세포질 신호전달 서열("일차 신호전달 도메인"으로도 지칭됨)은 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 알려져 있는 신호전달 모티프를 함유할 수 있다. 본 발명에서 특히 유용한 일차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278("ICOS"로도 알려져 있음), FcεRI, 및 CD66d, DAP10 및 DAP12로부터 유래된 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 특정 CAR에서, 본 발명의 임의의 1종 이상의 CAR 내의 세포내 신호전달 도메인은 세포내 신호전달 서열, 예를 들어 CD3-제타의 일차 신호전달 서열을 포함한다. 용어 "항원 제시 세포" 또는 "APC"는 그의 표면 상에 주요 조직적합성 복합체(MHC)와 복합체화된 외래 항원을 디스플레이하는 면역계 세포, 예컨대 보조 세포(예를 들어 B-세포, 수지상 세포 등)를 지칭한다. T 세포는 T 세포 수용체(TCR)를 사용하여 이들 복합체를 인식할 수 있다. APC는 항원을 프로세싱하여 T 세포에 제시한다.

[0114] 본원에서 사용되는 용어 "세포내 신호전달 도메인"은 분자의 세포내 부분을 나타낸다. 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 이펙터 기능 신호를 전달하고 세포가 특수 기능을 수행하도록 유도한다. 전체 세포내 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에서 전체 쇄를 사용할 필요는 없다. 세포내 신호전달 도메인의 절두된 부분이 사용되는 경우에, 이러한 절두된 부분은, 이것이 이펙터 기능 신호를 전달하는 한, 온전한 쇄 대신 사용될 수 있다. 이에 따라, 용어 세포내 신호전달 도메인은 이펙터 기능 신호를 전달하기에 충분한 세포내 신호전달 도메인의 임의의 절두된 부분을 포함하고자 한 것이다.

[0115] 세포내 신호전달 도메인은 CAR 함유 세포, 예를 들어 CART 세포의 면역 이펙터 기능을 촉진하는 신호를 생성한다. 예를 들어 CART 세포에서 면역 이펙터 기능의 예는 사이토카인의 분비를 비롯하여 세포용해 활성 및 헬퍼 활성을 포함한다.

[0116] 일 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 예시적인 일차 세포내 신호전달 도메인에는 일차 자극, 또는 항원 의존적 자극을 담당하는 분자로부터 유래된 것이 포함된다. 일 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 세포내 도메인을 포함할 수 있다. 예시적인 공동자극 세포내 신호전달 도메인에는 공동자극 신호, 또는 항원 독립적 자극을 담당하는 분자로부터 유래된 것이 포함된다. 예를 들어 CART의 경우에, 일차 세포내 신호전달 도메인은 T 세포 수용체의 세포질 서열을 포함할 수 있고, 공동

자극 세포내 신호전달 도메인은 공동수용체 또는 공동자극 분자로부터의 세포질 서열을 포함할 수 있다.

[0117] 일차 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신 기반의 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호전달 모티프를 포함할 수 있다. 일차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 CD3 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278("ICOS"로도 알려져 있음), FcεRI, CD66d, DAP10 및 DAP12로부터 유래된 것을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0118] 용어 "제타" 또는 대안적으로 "제타 쇄", "CD3-제타" 또는 "TCR-제타"는 CD237을 지칭한다. Swiss-Prot 수탁 번호 P20963은 예시적인 인간 CD3 제타 아미노산 서열을 제공한다. "제타 자극 도메인" 또는 대안적으로 "CD3-제타 자극 도메인" 또는 "TCR-제타 자극 도메인"은 CD3-제타의 자극 도메인 또는 이의 변이체(예컨대, 돌연변이, 예컨대, 점 돌연변이, 단편, 삽입, 또는 결실을 갖는 분자)를 지칭한다. 일부 구현예에서, 제타의 세포질 도메인은 GenBank 수탁번호 BAG36664.1의 잔기 52 내지 164 또는 이의 변이체(예컨대, 돌연변이, 예컨대, 점 돌연변이, 단편, 삽입, 또는 결실을 갖는 분자)를 포함한다. 일부 구현예에서, "제타 자극 도메인" 또는 "CD3-제타 자극 도메인"은 서열번호 9 또는 10으로 제공된 서열, 또는 이의 변이체(예컨대, 돌연변이, 예컨대, 점 돌연변이, 단편, 삽입, 또는 결실을 갖는 분자)이다.

[0119] 용어 "공동자극 분자"는 공동자극 리간드와 특이적으로 결합하여, T 세포에 의한 공동자극 반응, 예컨대 증식(그러나 이에 한정되지 않음)을 매개하는 T 세포 상의 동족 결합 파트너를 지칭한다. 공동자극 분자는 항원 수용체 또는 효율적인 면역 반응에 필요한 이들의 리간드 이외의 세포 표면 분자이다. 공동자극 분자는 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린 유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1(CD11a/CD18), 4-1BB(CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS(CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 알파, CD8 베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CD100(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, CD28-OX40, CD28-4-1BB 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0120] 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 공동자극 분자의 세포내 부분을 지칭한다.

[0121] 세포내 신호전달 도메인은 그것이 유래된 분자의 전체 세포내 부분, 또는 전체 고유의 세포내 신호전달 도메인, 또는 그의 기능적 단편을 포함할 수 있다.

[0122] 용어 "4-1BB"는 CD137 또는 종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 구성원 9를 지칭한다. Swiss-Prot 수탁 번호 P20963은 예시적인 인간 4-1BB 아미노산 서열을 제공한다. "4-1BB 공동자극 도메인"은 4-1BB의 공동자극 도메인, 또는 이의 변이체(예컨대, 돌연변이, 예컨대, 점 돌연변이, 단편, 삽입, 또는 결실을 갖는 분자)를 지칭한다. 일부 구현예에서, "4-1BB 공동자극 도메인"은 서열번호 7로서 제공된 서열, 또는 이의 변이체(예컨대, 돌연변이, 예컨대, 점 돌연변이, 단편, 삽입, 또는 결실을 갖는 분자)이다.

[0123] 본원에서 사용되는 용어 "면역 이펙터 세포"는 면역 반응, 예컨대 면역 이펙터 반응의 촉진에 관여되는 세포를 나타낸다. 면역 이펙터 세포의 예는 T 세포, 예를 들어 알파/베타 T 세포 및 감마/델타 T 세포, B 세포, 자연 살해(NK) 세포, 자연 살해 T(NKT) 세포, 비만 세포 및 골수 유래 식세포를 포함한다.

[0124] 본원에서 사용되는 용어 "면역 이펙터 기능 또는 면역 이펙터 반응"은, 예컨대 표적 세포의 면역 공격을 증강시키거나 촉진하는 면역 이펙터 세포의 기능 또는 반응을 나타낸다. 예컨대 면역 이펙터 기능 또는 반응은 표적 세포의 사멸, 또는 이의 성장 또는 증식의 억제를 촉진하는 T 또는 NK 세포의 특성을 나타낸다. T 세포의 경우에, 일차 자극 및 공동자극은 면역 이펙터 기능 또는 반응의 예이다.

[0125] 용어 "이펙터 기능"은 세포의 특수 기능을 지칭한다. T 세포의 이펙터 기능은, 예를 들어 사이토카인의 분비를 포함하는 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다.

[0126] 용어 "암호화하는"은 뉴클레오티드(예를 들어 rRNA, tRNA 및 mRNA)의 규정된 서열 또는 아미노산의 규정된 서열 및 그로부터 초래된 생물학적 특성을 갖는, 생물학적 과정에서 다른 중합체 및 마크로분자의 합성을 위한 주형으로서의 역할을 하는 폴리뉴클레오티드, 예컨대 유전자, cDNA, 또는 mRNA 내의 뉴클레오티드의 특정 서열의 고유한 특성을 지칭한다. 따라서, 유전자, cDNA 또는 RNA는 그러한 유전자에 상응하는 mRNA의 전사 및 번역이 세

포 또는 다른 생물계에서 단백질을 생성하는 경우에 단백질을 암호화한다. 뉴클레오티드 서열이 mRNA 서열과 동일하고 통상적으로 서열 목록에서 제공되는 암호화 가닥, 및 유전자 또는 cDNA의 전사를 위한 주형으로 사용되는 비암호화 가닥 둘 다는 그러한 유전자 또는 cDNA의 단백질 또는 다른 생성물을 암호화하는 것으로서 언급될 수 있다.

[0127] 달리 명시되지 않는 한, "아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오티드 서열"은, 서로 축퇴성 버전이고 동일한 아미노산 서열을 암호화하는 모든 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 어구 단백질 또는 RNA를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 또한 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열이 일부 버전에서 인트론(들)을 함유할 수 있는 정도까지 인트론을 포함할 수 있다.

[0128] 용어 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 본원에서 상호 교환적으로 사용되고, 본원에 기술된 바와 같이 특정한 생물학적 결과를 달성하는데 유효한 화합물, 제형, 물질 또는 조성물의 양을 지칭한다.

[0129] 용어 "내인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템으로부터의, 또는 그 내부에서 생성된 임의의 물질을 지칭한다.

[0130] 용어 "외인성"은 유기체, 세포, 조직 또는 시스템의 외부로부터 도입되거나 외부에서 생성된 임의의 물질을 지칭한다.

[0131] 용어 "발현"은 특정한 뉴클레오티드 서열의 전사 및/또는 번역을 지칭한다. 일부 구현예에서, 발현은 세포 내로 도입된 mRNA의 번역을 포함한다.

[0132] 용어 "전달 벡터"는 단리된 핵산을 포함하고 단리된 핵산을 세포의 내부에 전달하기 위해 사용될 수 있는 물질의 조성물을 지칭한다. 선형 폴리뉴클레오티드, 이온성 또는 친양쪽성 화합물과 회합된 폴리뉴클레오티드, 플라스미드 및 바이러스를 포함하나 이에 한정되지 않는 수많은 벡터가 당해 분야에 공지되어 있다. 따라서, 용어 "전달 벡터"는 자율 복제 플라스미드 또는 바이러스를 포함한다. 이 용어는 또한 핵산의 세포 내로의 전달을 용이하게 하는 비 플라스미드 및 비 바이러스 화합물, 예컨대, 예를 들어 폴리리신 화합물, 리포솜 등을 추가로 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 바이러스 전달 벡터의 예는 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0133] 용어 "발현 벡터"는 발현시킬 뉴클레오티드 서열에 작동적으로 연결된 발현 제어 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 지칭한다. 발현 벡터는 발현에 충분한 시스-작용 요소를 포함하고; 발현을 위한 다른 요소는 숙주 세포에 의해 또는 시험관 내 발현 시스템에서 공급될 수 있다. 발현 벡터는 재조합 폴리뉴클레오티드를 포함하는 코스미드, 플라스미드(예를 들어 네이키드이거나 또는 리포솜 내에 포함됨) 및 바이러스(예를 들어 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-관련 바이러스)를 포함하는 당해 분야에 공지된 모든 것을 포함한다.

[0134] 용어 "렌티바이러스"는 레트로바이러스과(Retroviridae family)의 속을 지칭한다. 렌티바이러스는 비-분열 세포를 감염시킬 수 있다는 점에서 레트로바이러스 중에서 독특한 것이고; 렌티바이러스는 유의한 양의 유전 정보를 숙주 세포의 DNA 내로 전달할 수 있어, 유전자 전달 벡터의 가장 효율적인 방법 중 하나가 된다. HIV, SIV 및 FIV가 렌티바이러스의 모든 예이다.

[0135] 용어 "렌티바이러스 벡터"는 특히, 문헌[Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)]에 제공된 자가 불활성화 렌티바이러스 벡터를 포함한, 렌티바이러스의 적어도 일부분으로부터 유래된 벡터를 지칭한다. 임상에서 사용될 수 있는 렌티바이러스 벡터의 다른 예는, 예를 들어 Oxford BioMedica로부터의 LENTIVECTOR® 유전자 전달 기술, Lentigen으로부터의 LENTIMAX™ 벡터 시스템 등을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 비임상 유형의 렌티바이러스 벡터가 또한 이용가능하고, 당업자에게 공지되어 있을 것이다.

[0136] 용어 "상동성" 또는 "동일성"은 2개의 중합체 분자 사이, 예를 들어 2개의 DNA 분자 또는 2개의 RNA 분자와 같은 2개의 핵산 분자 사이, 또는 2개의 폴리펩티드 분자 사이의 서브유닛 서열 동일성을 나타낸다. 두 분자 모두에서 서브유닛 위치가 동일한 단량체 서브유닛에 의해 점유될 때, 예를 들어 2개의 DNA 분자 각각에서 하나의 위치가 아데닌에 의해 점유되는 경우, 이들은 그 위치에서 상동성이거나 동일하다. 두 서열 사이의 상동성은 매칭되거나 상동성인 위치의 수의 직접적인 함수이다; 예를 들어, 두 서열에서의 위치의 절반(예를 들어, 중합체 10개의 서브유닛 길이에서 5개의 위치)이 상동성일 경우, 두 서열은 50% 상동성이고; 위치의 90%(예를 들어 10개 중 9개)가 매칭되거나 상동성일 경우, 두 서열은 90% 상동성이다.

[0137] 비 인간(예를 들어, 뮤린) 항체의 "인간화" 형태로는 비 인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하

는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 쇄 또는 이들의 단편(예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')2 또는 항체의 다른 항원 결합 하위서열)이 있다. 대개, 인간화 항체 및 이의 항체 단편은 수용자의 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비 인간 종(공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기로 대체된 인간 면역글로불린(수용자 항체 또는 항체 단편)이다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기는 상응하는 비 인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체/항체 단편은 수용자 항체에서도 발견되지 않고 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 또는 항체 단편 성능을 추가로 개량하고 최적화할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체 또는 이의 항체 단편은 적어도 하나의, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비 인간 면역글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 유의한 일부의 FR 영역은 인간 면역글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체 또는 항체 단편은 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린의 것의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 더 구체적인 것은 문헌[Jones et al., Nature, 321: 522-525, 1986]; 문헌[Reichmann et al., Nature, 332: 323-329, 1988]; 문헌[Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596, 1992] 참조.

[0138] "완전 인간"은 전체 분자가 인간 기원이거나 항체 또는 면역글로불린의 인간 형태에 대해 동일한 아미노산 서열로 이루어진 면역글로불린, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.

[0139] 용어 "단리된"은 천연 상태로부터 변경되거나 제거됨을 의미한다. 예를 들어, 살아있는 동물에 자연적으로 존재하는 핵산 또는 펩티드는 "단리된" 것이 아니지만, 그것의 천연 상태의 공존하는 물질로부터 부분적으로 또는 완전히 분리된 동일한 핵산 또는 펩티드는 "단리된" 것이다. 단리된 핵산 또는 단백질은 실질적으로 정제된 형태로 존재할 수 있거나, 예를 들어 숙주 세포와 같은 비 고유 환경에 존재할 수 있다.

[0140] 본 발명의 맥락에서, 통상적으로 발생하는 핵산 염기에 대해 다음의 약어가 사용된다. "A"는 아데노신을 지칭하고, "C"는 시토신을 지칭하고, "G"는 구아노신을 지칭하고, "T"는 티미딘을 지칭하고, "U"는 우리딘을 지칭한다.

[0141] 용어 "작동 가능하게 연결된" 또는 "전사 제어"는 조절 서열과 이종 핵산 서열 사이의 기능적 연결을 지칭하며, 이는 후자의 발현을 초래한다. 예를 들어 제1 핵산 서열은 제1 핵산 서열이 제2 핵산 서열과 기능적 관계로 위치하는 경우에 제2 핵산 서열과 작동 가능하게 연결된 것이다. 예를 들어 프로모터는 프로모터가 암호화 서열의 전사 또는 발현에 영향을 미치는 경우에 암호화 서열에 작동 가능하게 연결된 것이다. 작동 가능하게 연결된 DNA 서열들은 서로 연접할 수 있고, 예를 들어 2개의 단백질 암호화 영역을 연결하는 것이 필요한 경우에, 동일한 리딩 프레임 내에 존재한다.

[0142] 용어 면역원성 조성물의 "비경구" 투여는, 예를 들어 피하(s.c), 정맥 내(i.v.), 근육 내(i.m.), 또는 흉골 내 주사, 종양 내, 또는 주입 기술을 포함한다.

[0143] 용어 "핵산", "핵산 분자", "폴리뉴클레오티드", 또는 "폴리뉴클레오티드 분자"는 단일 또는 이중 가닥 형태의 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA) 및 이의 중합체를 나타낸다. 구체적으로 제한되지 않는 한, 이 용어는 기준 핵산과 유사한 결합 특성을 갖고 자연 발생적인 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는 천연 뉴클레오티드의 공지된 유사체를 함유하는 핵산을 포괄한다. 일부 구현예에서, "핵산", "핵산 분자", "폴리뉴클레오티드", 또는 "폴리뉴클레오티드 분자"는 뉴클레오티드/뉴클레오시드 유도체 또는 유사체를 포함한다. 달리 지시되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 명시적으로 지시된 서열뿐만 아니라 이의 보존적으로 변형된 변이체(예를 들어, 축퇴성 코돈 치환, 예를 들어, 보존적 치환), 대립유전자, 오르토로그, SNP 및 상보적 서열을 암시적으로 포괄한다. 구체적으로, 축퇴성 코돈 치환, 예컨대, 보존적 치환은 하나 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(문헌[Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991)]; 문헌[Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985)]; 및 문헌[Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)]).

[0144] 용어 "펩티드", "폴리펩티드", 및 "단백질"은 상호 교환적으로 사용되고, 펩티드 결합에 의해 공유적으로 연결된 아미노산 잔기로 이루어진 화합물을 나타낸다. 단백질 또는 펩티드는 적어도 2개의 아미노산을 함유하여야 하고, 단백질 또는 펩티드 서열에 포함될 수 있는 아미노산의 최대 수에 대한 제한은 존재하지 않는다. 폴리펩티드에는 펩티드 결합에 의해 서로 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 임의의 펩티드 또는 단백질이 포함된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어는, 예를 들어 당해 분야에서 예를 들어 펩티드, 올리고펩티드 및 올리고머로도 통상적으로 나타내는 단쇄, 및 많은 유형이 존재하는, 일반적으로 당해 분야에서 단백질로 나타내는 장쇄를 둘 다 나타낸다. "폴리펩티드"에는 특히, 예를 들어 생물학적 활성 단편, 실질적으로 상동성인 폴리

펩티드, 올리고펩티드, 동종이량체, 이종이량체, 폴리펩티드의 변이체, 변형된 폴리펩티드, 유도체, 유사체, 융합 단백질이 포함된다. 폴리펩티드에는 천연 펩티드, 재조합 펩티드, 또는 이의 조합이 포함된다.

[0145] 용어 "프로모터"는 폴리뉴클레오티드 서열의 특이적 전사를 개시하는 데 필요한, 세포의 합성 기구 또는 도입된 합성 기구에 의해 인식되는 DNA 서열을 지칭한다.

[0146] 용어 "프로모터/조절 서열"은 프로모터/조절 서열에 작동 가능하게 연결된 유전자 생성물의 발현에 필요한 핵산 서열을 지칭한다. 일부 경우에, 이 서열은 코어 프로모터 서열일 수 있고, 다른 예에서 이 서열은 또한 인핸서 서열, 및 유전자 생성물의 발현에 필요한 다른 조절 요소를 포함할 수 있다. 프로모터/조절 서열은 예를 들어 조직 특이적 방식으로 유전자 생성물을 발현하는 것일 수 있다.

[0147] 용어 "구성적" 프로모터는, 유전자 생성물을 암호화하거나 특정하는 폴리뉴클레오티드와 작동 가능하게 연결된 경우에 유전자 생성물이 세포의 대부분의 또는 모든 생리학적 조건 하에 세포에서 생성되도록 하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0148] 용어 "유도성" 프로모터는, 유전자 생성물을 암호화하거나 특정하는 폴리뉴클레오티드와 작동 가능하게 연결된 경우에 실질적으로 프로모터에 상응하는 유도자가 세포에 존재할 때에만 유전자 생성물이 세포에서 생성되도록 하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0149] 용어 "조직 특이적" 프로모터는, 유전자에 의해 암호화되거나 특정되는 폴리뉴클레오티드와 작동 가능하게 연결된 경우에 실질적으로 세포가 프로모터에 상응하는 조직 유형의 세포인 경우에만 유전자 생성물이 세포에서 생성되도록 하는 뉴클레오티드 서열을 지칭한다.

[0150] 용어 "암 연관 항원" 또는 "종양 항원"은 상호 교환적으로 전체적으로 또는 단편(예를 들어 MHC/펩티드)으로서 암 세포의 표면 상에서 발현되고, 약리학적 제제의 암 세포로의 우선적 표적화에 유용한 분자(전형적으로 단백질, 탄수화물 또는 지질)를 나타낸다. 일부 구현예에서, 종양 항원은 정상 세포 및 암 세포 둘 다에 의해 발현되는 마커, 예를 들어 계통 마커, 예를 들어 B 세포 상의 CD19이다. 일부 구현예에서, 종양 항원은 정상 세포와 비교하여 암 세포에서 과발현되는, 예를 들어 정상 세포와 비교하여 1배 과발현, 2배 과발현, 3배 과발현되거나 그 이상으로 과발현되는 세포 표면 분자이다. 일부 구현예에서, 종양 항원은 암 세포에서 부적절하게 합성된 세포 표면 분자, 예를 들어 정상 세포 상에서 발현되는 분자와 비교하여 결실, 부가 또는 돌연변이를 함유하는 분자이다. 일부 구현예에서, 종양 항원은 암 세포의 세포 표면 상에서만 전체적으로 또는 단편(예를 들어 MHC/펩티드)으로서 발현될 것이고, 정상 세포의 표면 상에서는 합성되거나 발현되지 않을 것이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR에는 MHC 제시 펩티드에 결합하는 항원 결합 도메인(예컨대 항체 또는 항체 단편)을 포함하는 CAR이 포함된다. 통상적으로, 내인성 단백질로부터 유래된 펩티드는 주조직 적합성 복합체(MHC) 부류 I 분자의 포켓을 채우고, CD8+ T 림프구 상의 T 세포 수용체(TCR)에 의해 인식된다. MHC 부류 I 복합체는 모든 유핵 세포에 의해 구성적으로 발현된다. 암에서, 바이러스 특이적 및/또는 종양 특이적 펩티드/MHC 복합체는 면역치료법을 위한 고유한 부류의 세포 표면 표적을 나타낸다. 인간 백혈구 항원(HLA)-A1 또는 HLA-A2와 관련하여 바이러스 또는 종양 항원으로부터 유래된 펩티드를 표적화하는 TCR-유사 항체가 기술된 바 있다(예를 들어 문헌[Sastry et al., J Virol. 2011 85(5):1935-1942]; 문헌[Sergeeva et al., Blood, 2011 117(16):4262-4272]; 문헌[Verma et al., J Immunol 2010 184(4):2156-2165]; 문헌[Willemsen et al., Gene Ther 2001 8(21):1601-1608]; 문헌[Dao et al., Sci Transl Med 2013 5(176):176ra33]; 문헌[Tassev et al., Cancer Gene Ther 2012 19(2):84-100] 참조). 예를 들어 TCR 유사 항체는 라이브러리, 예컨대 인간 scFv 파지 디스플레이 라이브러리의 스크리닝으로부터 확인될 수 있다.

[0151] 용어 "종양 지지 항원" 또는 "암 지지 항원"은, 그 자체가 암성은 아니지만, 예를 들어 암 세포의 성장 또는 생존, 예를 들어 면역 세포에 대한 저항성을 촉진함으로써 암 세포를 지지하는 세포의 표면 상에서 발현되는 분자(전형적으로 단백질, 탄수화물 또는 지질)를 상호 교환적으로 지칭한다. 이러한 유형의 예시적인 세포는 기질 세포 및 골수-유래 억제 세포(MDSC)를 포함한다. 종양 지지 항원 그 자체는, 항원이 암 세포를 지지하는 세포 상에 존재하기만 한다면, 종양 세포를 지지하는 데 있어서 일정한 역할을 할 필요가 없다.

[0152] scFv와 관련하여 사용된 용어 "가요성 폴리펩티드 링커" 또는 "링커"는 가변 중쇄 및 가변 경쇄 영역을 함께 연결하기 위해 단독으로 또는 조합하여 사용되는 아미노산, 예컨대 글리신 및/또는 세린 잔기로 이루어진 펩티드 링커를 지칭한다. 일부 구현예에서, 가요성 폴리펩티드 링커는 Gly/Ser 링커이고, 아미노산 서열 (Gly-Gly-Gly-Ser)n을 포함하며, 여기서 n은 1 이상의 양의 정수이다. 예를 들어, n=1, n=2, n=3. n=4, n=5 및 n=6, n=7, n=8, n=9 및 n=10이다(서열번호 42). 일부 구현예에서, 가요성 폴리펩티드 링커는 (Gly4 Ser)4(서열번호 27) 또

는 (Gly4 Ser)3(서열번호 28)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 또 다른 구현예에서, 링커는 (Gly2Ser), (GlySer) 또는 (Gly3Ser)(서열번호 29)의 다중 반복체를 포함한다. 또한, 본원에 참조로 포함되는 국제 공개 제 2012/138475호에 기술된 링커가 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0153] 본원에서 사용되는 5' 캡(RNA 캡, RNA 7-메틸구아노신 캡 또는 RNA m7G 캡으로도 지칭됨)은 전사 개시 직후에 진핵 메신저 RNA의 "맨 앞쪽" 또는 5' 말단에 부가된 변형된 구아닌 뉴클레오티드이다. 5' 캡은 제1 전사 뉴클레오티드에 연결된 말단 기로 이루어진다. 이의 존재는 리보솜에 의한 인식 및 RNase로부터의 보호에 중요하다. 캡 부가는 전사와 커플링되고, 전사와 동시에 일어나서, 각각은 서로 영향을 미치게 된다. 전사 시작 직후에, 합성 중인 mRNA의 5' 말단에는 RNA 폴리머라아제와 회합된 캡 합성 복합체가 결합된다. 이러한 효소 복합체는 mRNA 캡핑에 필요한 화학 반응을 촉매작용한다. 합성은 다단계 생화학 반응으로서 진행된다. 캡핑 모이어티는 mRNA의 기능성, 예컨대 이의 안정성 또는 번역 효율을 조정하도록 변형될 수 있다.

[0154] 본원에서 사용된 "시험관 내 전사 RNA"는 시험관 내에서 합성된 RNA, 바람직하게는 mRNA를 지칭한다. 일반적으로, 시험관 내 전사 RNA는 시험관 내 전사 벡터로부터 생성된다. 시험관 내 전사 벡터는 시험관 내 전사 RNA를 생성하는 데 사용되는 주형을 포함한다.

[0155] 본 명세서에서 사용되는 "폴리(A)"는 폴리아데닐화에 의해 mRNA에 부착된 일련의 아데노신이다. 일시적 발현을 위한 구축물의 바람직한 구현예에서, 폴리A는 50 내지 5000개(서열번호 30), 바람직하게는 64개 초과, 더욱 바람직하게는 100개 초과, 가장 바람직하게는 300 또는 400개 초과이다. 폴리(A) 서열은 mRNA 기능성, 예컨대 국재화, 안정성 또는 번역 효율을 조정하기 위해 화학적으로 또는 효소적으로 변형될 수 있다.

[0156] 본 명세서에서 사용되는 "폴리아데닐화"는 폴리아데닐릴 모이어티, 또는 이의 변형된 변이체의 메신저 RNA 분자에 대한 공유 결합을 지칭한다. 진핵 유기체에서, 대부분의 메신저 RNA(mRNA) 분자는 3' 말단에서 폴리아데닐화된다. 3' 폴리(A) 테일은 효소, 폴리아데닐레이트 폴리머라아제의 작용을 통해 프리(pre)-mRNA에 부가된 아데닌 뉴클레오티드(종종 수백 개)의 긴 서열이다. 고등 진핵생물에서, 폴리(A) 테일은 특정 서열, 폴리아데닐화 신호를 함유하는 전사체 상에 부가된다. 폴리(A) 테일 및 그에 결합된 단백질은 mRNA를 엑소뉴클레아제에 의한 분해로부터 보호하는 것을 돕는다. 폴리아데닐화는 또한 전사 종결, mRNA의 핵으로부터의 유출, 및 번역에 중요하다. 폴리아데닐화는 DNA의 RNA로의 전사 직후에 핵에서 일어나지만, 추가로 이후에 세포질에서도 일어날 수 있다. 전사가 종결된 후에, mRNA 쇄는 RNA 폴리머라아제와 회합된 엔도뉴클레아제 복합체의 작용을 통해 절단된다. 절단 부위는 통상적으로 절단 부위 근처의 염기 서열 AAUAAA의 존재를 특징으로 한다. mRNA가 절단된 후에, 아데노신 잔기는 절단 부위의 자유 3' 말단에 부가된다.

[0157] 본원에서 사용되는 "일시적"은 수 시간, 수 일 또는 수 주의 기간 동안의 비 통합된 이식유전자의 발현을 지칭하고, 여기서 발현 기간은 게놈 내로 통합되거나 숙주 세포 내의 안정적인 플라스미드 레플리콘 내에 포함된 경우의 유전자의 발현을 위한 기간 미만이다.

[0158] 본원에서 사용되는 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 하나 이상의 요법제(예를 들어 하나 이상의 치료제, 예컨대 본 발명의 CAR)의 투여로부터 초래되는 증식성 장애의 진행, 중증도 및/또는 지속 기간의 감소 또는 개선, 또는 이의 하나 이상의 증상(바람직하게는, 하나 이상의 식별 가능한 증상)의 개선을 지칭한다. 특정 구현예에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 예를 들어 환자가 반드시 식별할 수 있는 것이 아닌, 증식성 장애의 적어도 하나의 측정 가능한 물리적 파라미터, 예컨대 종양의 성장의 개선을 지칭한다. 다른 구현예에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 예를 들어, 식별 가능한 증상의 안정화에 의해 물리적으로, 예를 들어 물리적 파라미터의 안정화에 의해 생리학적으로, 또는 둘 다에 의해, 증식성 장애의 진행을 억제하는 것을 지칭한다. 다른 구현예에서, 용어 "치료하다", "치료" 및 "치료하는"은 종양 크기 또는 암 세포 수의 감소 또는 안정화를 지칭한다.

[0159] 용어 "신호 전달 경로"는 신호를 세포의 한 부분으로부터 세포의 또 다른 부분으로 전달하는 역할을 하는 다양한 신호 전달 분자들 사이의 생화학적 관계를 지칭한다. 어구 "세포 표면 수용체"는 신호를 수신하고 세포막을 가로질러 신호를 전달하는 것이 가능한 분자 및 분자의 복합체를 포함한다.

[0160] 용어 "대상체"는 면역 반응이 유발될 수 있는 살아 있는 유기체(예를 들어, 포유류, 인간)를 포함하는 것으로 의도된다.

[0161] 용어 "실질적으로 정제된" 세포는 다른 세포 유형이 본질적으로 없는 세포를 지칭한다. 실질적으로 정제된 세포는 또한 이의 자연 발생 상태에서 보통 회합되어 있는 다른 세포 유형으로부터 분리된 세포를 지칭한다. 일부 경우에, 실질적으로 정제된 세포의 집단은 균질한 세포 집단을 지칭한다. 다른 경우에, 이 용어는 단순히 그들

의 천연 상태에서 자연적으로 회합되어 있는 세포로부터 분리된 세포를 지칭한다. 일부 양태에서, 세포는 시험관 내에서 배양된다. 다른 양태에서, 세포는 시험관 내에서 배양되지 않는다.

[0162] 본원에서 사용된 용어 "치료적"은 치료를 의미한다. 치료적 효과는 질환 상태의 감소, 억제, 관해 또는 근절에 의해 수득된다.

[0163] 본원에서 사용된 용어 "예방"은 질환 또는 질환 상태의 예방 또는 보호적 처치를 의미한다.

[0164] 본 발명의 맥락에서, "종양 항원" 또는 "과다증식성 장애 항원" 또는 "과다증식성 장애와 관련된 항원"은 특정 과다증식성 장애에 통상적인 항원을 지칭한다. 특정 양태에서, 본 발명의 과다증식성 장애 항원은 원발성 또는 전이성 흑색종, 흉선종, 림프종, 육종, 폐암, 간암, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종, 백혈병, 자궁암, 자궁경부암, 방광암, 신장암 및 선암종 예컨대 유방암, 전립선암(예를 들어, 거세 저항성 또는 요법 저항성 전립선암 또는 전이성 전립선암), 난소암, 췌장암 등, 또는 형질세포 증식 장애, 예를 들어, 무증상 골수종(연쇄 다발성 골수종 또는 무증상 골수종), 미결정 유의성의 단일클론 감마병증(MGUS), 발덴스트롬의 마크로글로불린혈증, 형질세포종(예를 들어, 형질세포 이형성증, 고립성 골수종, 고립성 형질세포종, 골수외 형질세포종, 및 다발성 형질세포종), 전신 아밀로이드 경쇄 아밀로이드증, 및 POEMS 증후군(크로우·후카세 증후군, 타카츠키병, 및 PEP 증후군으로도 알려져 있음)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 암으로부터 유래된다.

[0165] 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"은 외인성 핵산이 숙주 세포 내로 전달되거나 도입되는 과정을 지칭한다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 세포는 외인성 핵산으로 형질감염된, 형질전환된 또는 형질도입된 세포이다. 세포는 일차 대상체 세포 및 이의 자손을 포함한다.

[0166] 용어 "특이적으로 결합한다"는 샘플 내에 존재하는 동족 결합 파트너(예를 들어, T 세포 상에 존재하는 자극 및/또는 공동자극 분자) 단백질을 인식하고 결합하지만 샘플 내의 다른 분자는 실질적으로 인식하거나 결합하지 않는 항체 또는 리간드를 지칭한다.

[0167] 본원에서 사용된 "조절성 키메라 항원 수용체(RCAR)"는 면역 이펙터 세포에 존재하는 경우에 표적 세포, 전형적으로 암 세포에 대한 특이성 및 세포내 신호 생성을 세포에 제공하는, 가장 단순한 구현예에서 전형적으로 2개의, 폴리펩티드의 세트를 지칭한다. 일부 구현예에서, RCAR은 적어도 세포외 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 및 CAR 분자와 관련하여 본원에 정의된 바와 같은 자극 분자 및/또는 공동자극 분자로부터 유래된 기능적 신호 전달 도메인을 포함하는 세포질 신호전달 도메인(본원에서 "세포내 신호전달 도메인"으로도 지칭됨)을 포함한다. 일부 구현예에서, RCAR에서 폴리펩티드의 세트는 서로 인접하지 않고, 예를 들어 상이한 폴리펩티드 쇄 내에 존재한다. 일부 구현예에서, RCAR은 이량체화 분자의 존재 시 폴리펩티드를 서로 커플링시킬 수 있는, 예를 들어 항원 결합 도메인을 세포내 신호전달 도메인에 커플링시킬 수 있는 이량체화 스위치를 포함한다. 일부 구현예에서, RCAR은 본원에 기술된 바와 같은 세포(예를 들어 면역 이펙터 세포), 예를 들어 RCAR 발현 세포(본원에서 "RCARX 세포"로도 지칭됨)에서 발현된다. 일 구현예에서 RCARX 세포는 T 세포이고, RCART 세포로서 지칭된다. 일 구현예에서, RCARX 세포는 NK 세포이고, RCARN 세포로서 지칭된다. RCAR은 RCAR 발현 세포에게 표적 세포, 전형적으로 암 세포에 대한 특이성, 및 조절 가능한 세포내 신호 생성 또는 증식을 제공할 수 있고, 이는 RCAR 발현 세포의 면역 이펙터 특성을 최적화할 수 있다. 구현예에서, RCAR 세포는 적어도 부분적으로, 항원 결합 도메인에 의해 결합된 항원을 포함하는 표적 세포에 대한 특이성을 제공하기 위해 항원 결합 도메인에 의존한다.

[0168] 본원에서 사용된 용어 "막 앵커" 또는 "막 테더링 도메인"은 세포 외 또는 세포 내 도메인을 원형질 막에 고정시키기에 충분한 폴리펩티드 또는 모이어티, 예를 들어 미리스토일 기를 지칭한다.

[0169] 본원에서 사용된 용어 "스위치 도메인"은, 예를 들어 RCAR을 언급하는 경우에, 이량체화 분자의 존재 하에 또 다른 스위치 도메인과 회합하는 엔티티, 전형적으로 폴리펩티드-기반 엔티티를 지칭한다. 회합은 제1 스위치 도메인에 연결된, 예를 들어 그에 융합된 제1 엔티티, 및 제2 스위치 도메인에 연결된, 예를 들어 그에 융합된 제2 엔티티의 기능적 커플링을 초래한다. 제1 및 제2 스위치 도메인은 이량체화 스위치로 총칭된다. 구현예에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 서로 동일하고, 예를 들어 그들은 동일한 일차 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드이고, 동종이량체화 스위치로 총칭된다. 구현예에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 서로 상이하고, 예를 들어 그들은 상이한 일차 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드이고, 이종이량체화 스위치로 총칭된다. 구현예에서, 스위치는 세포 내에 존재한다. 구현예에서, 스위치는 세포 외에 존재한다. 구현예에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반의 엔티티, 예를 들어 FKBP 또는 FRB-기반의 것이고, 이량체화 분자는 소분자, 예를 들어 라파로그(rapalogue)이다. 구현예에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반의 엔티티, 예를 들어 myc 펩티드에 결합하는 scFv이고, 이

량체화 분자는 폴리펩티드, 이의 단편, 또는 폴리펩티드, 예를 들어 myc 리간드의 다량체 또는 하나 이상의 myc scFv에 결합하는 myc 리간드의 다량체이다. 구현예에서, 스위치 도메인은 폴리펩티드-기반의 엔티티, 예를 들어 myc 수용체이고, 이량체화 분자는 항체 또는 이의 단편, 예를 들어 myc 항체이다.

[0170] 본원에서 사용된 용어 "이량체화 분자"는, 예를 들어 RCAR을 언급할 때, 제1 스위치 도메인과 제2 스위치 도메인의 회합을 촉진하는 분자를 지칭한다. 구현예에서, 이량체화 분자는 대상체에서 자연 발생되지 않거나, 또는 유의한 이량체화를 초래할 농도로 발생되지 않는다. 구현예에서, 이량체화 분자는 소분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001이다.

[0171] 용어 "낮은, 면역 증진 용량"은, mTOR 억제제, 예를 들어 알로스테릭 mTOR 억제제, 예를 들어 RAD001 또는 라파마이신, 또는 촉매적 mTOR 억제제와 함께 사용된 경우에, 예를 들어 P70 S6 키나제 활성의 억제에 의해 측정된 바와 같이 부분적으로 mTOR 활성을 억제하지만, 완전히 억제하지는 않는 mTOR 억제제의 용량을 지칭한다. 예를 들어 P70 S6 키나제의 억제에 의해 mTOR 활성을 평가하는 방법이 본원에서 논의된다. 상기 용량은 완전한 면역 억제를 초래하기에는 불충분하지만, 면역 반응을 증진시키기에는 충분하다. 일 구현예에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는 PD-1 양성 T 세포의 수의 감소 및/또는 PD-1 음성 T 세포의 수의 증가, 또는 PD-1 음성 T 세포/PD-1 양성 T 세포의 비의 증가를 초래한다. 일 구현예에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는 나이브 T 세포의 수의 증가를 초래한다. 일 구현예에서, 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제는

[0172] 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 하기 마커: $CD62L^{고}$, $CD127^{고}$, $CD27^{+}$, 및 BCL2 중 하나 이상의 발현의 증가;

[0173] 예를 들어 기억 T 세포, 예를 들어 기억 T 세포 전구체 상에서의 KLRG1의 발현의 감소; 및

[0174] 기억 T 세포 전구체, 예를 들어, 다음 특징 중 임의의 하나 또는 조합을 나타내는 세포의 수의 증가: 증가된 $CD62L^{고}$, 증가된 $CD127^{고}$, 증가된 $CD27^{+}$, 감소된 KLRG1, 및 증가된 BCL2;

[0175] 중 하나 이상을 초래하고,

[0176] 여기서 임의의 상기 기술된 변화는, 예를 들어 비-치료 대상체와 비교하여, 예를 들어 적어도 일시적으로 발생한다.

[0177] 본원에서 사용된 "불응성"은 치료에 반응하지 않는 질환, 예를 들어 암을 지칭한다. 구현예에서, 불응성 암은 치료 전 또는 치료 시작 시에 치료에 저항성일 수 있다. 다른 구현예에서, 불응성 암은 치료하는 동안 저항성이 될 수 있다. 불응성 암은 저항성 암으로도 칭해진다.

[0178] 본원에서 사용된 "재발된" 또는 "재발"은 개선 또는 반응성의 기간 이후, 예를 들어 요법, 예를 들어 암 요법의 선행 치료 이후 질환(예를 들어 암) 또는 질환, 예컨대 암의 징후 및 증상의 복귀 또는 재출현을 지칭한다. 반응성의 초기 기간은 특정 역치 미만, 예를 들어 20%, 1%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 미만으로 떨어진 암 세포의 수준을 수반할 수 있다. 재출현은 특정 역치 초과, 예를 들어 20%, 1%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 초과로 상승한 암 세포의 수준을 수반할 수 있다. 예를 들어 B-ALL과 관련하여, 재출현은 완전 반응 후 혈액, 골수(5% 초과), 또는 임의의 골수외 부위에서 예를 들어 모세포의 재출현을 수반할 수 있다. 이와 관련하여, 완전 반응은 5% 미만의 BM 모세포를 수반할 수 있다. 보다 일반적으로, 일 구현예에서, 반응(예를 들어 완전 반응 또는 부분 반응)은 검출 가능한 MRD(최소 잔류 질환)의 부재를 수반할 수 있다. 일 구현예에서, 반응성의 초기 기간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6일; 적어도 1, 2, 3, 또는 4주; 적어도 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 또는 12개월; 또는 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5년 지속된다.

[0179] 범위: 본 개시 전체에 걸쳐, 본 발명의 다양한 양태는 범위 형식으로 제시될 수 있다. 범위 형식의 기술은 단지 편의 및 간결함을 위한 것이고, 본 발명의 범주에 대한 융통성 없는 제한으로서 해석되지 않아야 함이 이해되어야 한다. 따라서, 범위의 기술은 구체적으로 개시된 모든 가능한 하위범위와, 그 범위 내의 개별 수치 값을 갖는 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 1 내지 6과 같은 범위의 기술은 구체적으로 개시된 하위범위, 예컨대 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등과, 그 범위 내의 개별 숫자, 예를 들어 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3, 및 6을 갖는 것으로 간주되어야 한다. 또 다른 예로서, 95 내지 99%의 동일성과 같은 범위는 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 것을 포함하고, 하위범위, 예컨대 96 내지 99%, 96 내지 98%, 96 내지 97%, 97 내지 99%, 97 내지 98% 및 98 내지 99%의 동일성을 포함한다. 이것은 범위의 폭에 상관없이 적용된다.

[0180] 본원에서 사용된 용어 "유전자 편집 시스템"은 표적으로 하는 게놈 DNA의 부위에서 또는 그 근처에서 하나 이상의 핵산의 변경, 예를 들어 결실을 유도하고 초래하는 시스템, 예를 들어 하나 이상의 분자를 지칭한다. 유전자 편집 시스템은 당해 분야에 공지되어 있으며, 하기에 더 상세하게 기술된다.

[0181] 본원에서 사용된 "조합하여" 투여된다는 것은 장애를 앓는 대상체가 고통을 겪는 동안 두 가지(이상)의 상이한 치료가 대상체에게 전달되는 것, 예를 들어 대상체가 장애를 앓고 있다고 진단된 후 및 장애가 치유되거나 제거되거나 다른 이유로 치료가 중단되기 전에 두 가지 이상의 치료가 전달됨을 의미한다. 일부 구현예에서, 하나의 치료의 전달은 제2 전달이 시작될 때 여전히 일어나고 있는 중이어서, 투여 면에서 중첩이 존재한다. 이것은 때때로 본원에서 "동시" 또는 "병행 전달"로 지칭된다. 다른 구현예에서, 하나의 치료의 전달은 다른 치료의 전달이 시작되기 이전에 종료된다. 어느 하나의 경우의 일부 구현예에서, 치료는 조합 투여로 인해 더욱 효과적이다. 예를 들어 제2 치료가 보다 효과적이고, 예를 들어 더 적은 제2 치료에 의해 등가의 효과가 관찰되거나, 또는 제1 치료의 부재 하에 제2 치료가 투여된 경우에 관찰되는 것보다 더 큰 정도로 제2 치료가 증상을 감소시키거나, 또는 제1 치료에 의해 유사한 상황이 관찰된다. 일부 구현예에서, 전달은, 증상의 감소, 또는 장애와 관련된 다른 파라미터가 다른 것의 부재 하에 전달된 하나의 치료에 의해 관찰되는 것보다 더 크도록 하는 것이다. 상기 2가지의 치료의 효과는 부분적으로 상가적이거나, 완전히 상가적이거나, 또는 상가적인 것보다 클 수 있다. 전달은, 전달된 제1 치료의 효과가 제2 치료가 전달될 때 여전히 검출 가능하도록 하는 것일 수 있다.

[0182] 본원에서 조성물 및 방법의 다양한 양태가 아래에서 추가로 상세히 나타나 있다. 추가의 정의가 본 명세서 전체에 걸쳐 기재되어 있다.

[0183] **설명**

[0184] BCMA 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 세포, 예를 들어, CART-BCMA를 사용한 질환, 예컨대 암의 치료를 위한 물질의 조성물 및 이용 방법이 본원에 제공된다.

[0185] 일 양태에서, 본 발명은 CAR을 발현하도록 조작된 세포(예컨대, 면역 이펙터 세포, 예컨대, T 세포 또는 NK 세포)를 제공하며, 이러한 CAR T 세포("CART") 또는 CAR NK 세포는 항종양 특성을 나타낸다. 일 양태에서 세포는 CAR로 형질전환되고, CAR은 세포 표면 상에 발현된다. 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 면역 이펙터 세포, 예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)는 CAR을 암호화하는 바이러스 벡터로 형질도입된다. 일부 구현예에서, 바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터이다. 일부 구현예에서, 바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터이다. 일부 이러한 구현예에서, 세포는 CAR을 안정적으로 발현할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 세포(예를 들어, 면역 이펙터 세포, 예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)는 CAR을 암호화하는 핵산, 예를 들어 mRNA, cDNA, DNA로 형질감염된다. 일부 이러한 구현예에서, 세포는 CAR을 일시적으로 발현할 수 있다.

[0186] 일 양태에서, 본 발명의 CAR은 특정 항체의 항원 결합 도메인을 세포내 신호전달 분자와 조합한다. 예를 들어, 일부 양태에서, 세포내 신호전달 분자는 CD3-제타 쇄, 4-1BB 및 CD28 신호전달 모듈 및 이의 조합을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일 양태에서, 항원 결합 도메인은 BCMA에 결합한다.

[0187] 또한, 본 발명은 BCMA CAR 조성물, 및 다른 질환 중 특히, BCMA를 발현하는 세포 또는 조직을 수반하는 암 또는 임의의 악성 종양 또는 자가면역 질환의 치료를 위한 의약 또는 방법에서의 이들의 용도를 제공한다.

[0188] 일 양태에서, 본 발명의 CAR은 BCMA를 발현하는 정상 세포를 퇴치하기 위해 사용될 수 있고, 이에 의해 세포 이식 전에 세포 조건화 요법으로서 사용하기 위해 적용될 수 있다. 일 양태에서, BCMA를 발현하는 정상 세포는 BCMA를 발현하는 정상 줄기 세포이고, 세포 이식은 줄기 세포 이식이다.

[0189] 일 양태에서, 본 발명은 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하도록 조작된 세포(예컨대, T 세포 또는 NK 세포)를 제공하며, 이러한 CAR T 세포("CART") 또는 CAR NK 세포는 항종양 특성을 나타낸다. 바람직한 항원은 BCMA이다. 일 양태에서, CAR의 항원 결합 도메인은 인간 항-BCMA 항체 단편을 포함한다. 일 양태에서, CAR의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하는 인간 항-BCMA 항체 단편을 포함한다. 따라서, 본 발명은 인간 항-BCMA 결합 도메인을 포함하고 세포, 예를 들어, T 세포 또는 NK 세포 내로 들어가 이것이 조작되게 하는 BCMA-CAR, 및 입양 요법을 위한 이들의 사용 방법을 제공한다.

[0190] 일 양태에서, BCMA-CAR은 CD137(4-1BB) 신호전달 도메인, CD28 신호전달 도메인, CD3제타 신호 도메인 및 이의 임의의 조합의 군으로부터 선택된 적어도 1개의 세포내 도메인을 포함한다. 일 양태에서, BCMA-CAR은 CD137(4-1BB) 또는 CD28 이외의 1개 이상의 공동자극 분자(들)로부터의 적어도 1개의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0191] **키메라 항원 수용체(CAR)**

[0192] 본 발명은 항-BCMA 결합 도메인(예컨대, 본원에 기술된 인간 항-BCMA 결합 도메인), 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR(예컨대, CAR 폴리펩티드)를 제공하며, 상기 항-BCMA 결합 도메인은 표 2 내지 13에 열거된 임의의 항-BMCA 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HC CDR1), 중쇄 상보성 결정 영역 2(HC CDR2), 및 중쇄 상보성 결정 영역 3(HC CDR3)을 포함한다. CAR의 항-BCMA 결합 도메인은 표 2 내지 13에 열거된 임의의 항-BCMA 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 경쇄 상보성 결정 영역 1(LC CDR1), 경쇄 상보성 결정 영역 2(LC CDR2), 및 경쇄 상보성 결정 영역 3(LC CDR3)을 추가로 포함할 수 있다.

[0193] 본 발명은 또한 본원에 기술된 CAR을 암호화하는, 예컨대, 항-BCMA 결합 도메인(예컨대, 본원에 기술된 인간 항-BCMA 결합 도메인), 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR을 암호화하는 핵산 분자를 제공하며, 상기 항-BCMA 결합 도메인은 표 2 내지 13에 열거된 임의의 항-BMCA 중쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, CAR의 암호화된 항-BCMA 결합 도메인은 표 2 내지 13에 열거된 임의의 항-BMCA 경쇄 결합 도메인 아미노산 서열의 LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 추가로 포함할 수 있다.

[0194] 일 양태에서, 예시적인 BCMA CAR 구축물은 선택적 리더 서열, 세포외 항원 결합 도메인, 힌지, 막관통 도메인 및 세포내 자극 도메인을 포함한다. 예시적인 리더 서열은 서열번호 1로서 제공된다. 리더 서열을 암호화하는 예시적인 핵산 서열은 서열번호 12로서 제공된다. 예시적인 힌지/스페이서 서열은 서열번호 2, 3, 4, 또는 5로서 제공된다. 예시적인 막관통 도메인 서열은 서열번호 6으로서 제공된다. 4-1BB 단백질의 세포내 신호전달 도메인의 예시적인 서열은 서열번호 7로서 제공된다. CD27의 세포내 신호전달 도메인의 예시적인 서열은 서열번호 8로서 제공된다. 예시적인 CD3제타 도메인 서열은 서열번호 9 또는 10으로서 제공된다. 특정 구현예에서, 도메인은 인접하여 동일한 리딩 프레임 내에 존재하여 단일 융합 단백질을 형성한다. 다른 구현예에서, 도메인은 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 RCAR 분자에서와 같이, 개별 폴리펩티드 내에 존재한다.

[0195] CAR 구축물은 다음 서열 중 하나 이상을 갖는 Gly/Ser 링커를 포함할 수 있다: GGGGS(서열번호 25); 1~6개의 "Gly Gly Gly Gly Ser" 반복 단위를 포함, 예컨대, GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS(서열번호 26); GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS(서열번호 27); GGGGSGGGGS GGGGS(서열번호 28); GGGS(서열번호 29); 또는 1~10개의 "Gly Gly Gly Ser" 반복 단위를 포함, 예컨대, GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS(서열번호 42).

[0196] 구현예에서, CAR 구축물은 폴리 A 서열, 예컨대, 50~5000 또는 100~5000개의 아데닌을 포함하는 서열(각각 서열번호 30 및 33)(예컨대, 서열번호 30, 서열번호 33, 서열번호 34 또는 서열번호 35), 또는 50~5000개의 티민을 포함하는 서열(서열번호 32)(예컨대, 서열번호 31, 서열번호 32)을 포함한다. 대안적으로, CAR 구축물은 예를 들어, 서열 GSTSGSGKPGSGEGSTKG(서열번호 43)를 포함하는 링커를 포함할 수 있다.

[0197] 특정 구현예에서, 전장 BCMA CAR 분자는 표 2 내지 13에 제공된 R1B6, R1F2, R1G5, PI61, B61-02, B61-10, Hy03, 또는 Hy52, 또는 이와 실질적으로(예컨대, 95 내지 99%) 동일한 서열의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 이러한 서열의 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다. 특정 구현예에서, BCMA CAR 분자, 또는 항-BCMA 항원 결합 도메인은 표 2, 6, 및 10에 제공된 R1B6, R1F2, R1G5, PI61, B61-02, B61-10, Hy03, 또는 Hy52, 또는 이와 실질적으로(예컨대, 95 내지 99%) 동일한 서열의 scFv 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, BCMA CAR 분자, 또는 항-BCMA 항원 결합 도메인은 표 2, 6, 및 10에 제공된 R1B6, R1F2, R1G5, PI61, B61-02, B61-10, Hy03, 또는 Hy52, 또는 이와 실질적으로(예컨대, 95 내지 99%) 동일한 서열의 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, BCMA CAR 분자, 또는 항-BCMA 항원 결합 도메인은 표 2 내지 13에 제공된 R1B6, R1F2, R1G5, PI61, B61-02, B61-10, Hy03, 또는 Hy52, 또는 이와 실질적으로(예컨대, 95 내지 99%) 동일한 서열의 중쇄 가변 영역으로부터의 1, 2, 또는 3개의 CDR(예컨대, HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3) 및/또는 경쇄 가변 영역으로부터의 1, 2, 또는 3개의 CDR(예컨대, LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3)을 포함한다.

[0198] 본원에 기술된 CAR 분자의 일부분이 될 수 있는 다양한 성분의 비제한적인 예의 서열을 **표 1**에 열거하였다. 여기서, "aa"는 아미노산, "na"는 상응하는 펩티드를 암호화하는 핵산을 나타낸다.

[0199] [표 1]

[0200] CAR의 다양한 성분의 서열

서열번호	설명	서열
서열번호 11	EF-1 프로모터 (na)	CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCG CCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTG AACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAA GTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGG GAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTT TTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGT GTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTT GCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCT

[0201]

		TGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGA GGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTG AGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGT GGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGC CATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGG CAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGT ATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCG TCCCAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCG GCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGC CTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGC CCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGA GCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTC AAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGT CACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCG CTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACC TCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTG GGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATT CTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATT CTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTC AGGTGTCGTGA
서열번호 1	리더(aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARP
서열번호 12	리더(na)	ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTG CTGCTGCATGCCGCTAGACCC
서열번호 2	CD 8 힌지(aa)	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD
서열번호 13	CD8 힌지(na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCAC CATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCG GCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACT TCGCCTGTGAT
서열번호 3	Ig4 힌지(aa)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGKM
서열번호 14	Ig4 힌지(na)	GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCC GAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGAC CTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCA AGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGG GTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAAC GGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCC CAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGC CTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAG GGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA CGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGT

[0202]

		GGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCT CCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG AGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG
서열번호 4	IgD 힌지(aa)	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEE KKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRD KATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGS QSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQ APVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQRE VNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVS HEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH
서열번호 15	IgD 힌지(na)	AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCT ACTGCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTAC TACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGGA GGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAG AGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGCC GCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTG GCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTC TGACCTGAAGGATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAA GGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCC ATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCCTTC CGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTACTC TAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTA GAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAAT CTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTC TTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAACATCTTGCTC ATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTT CGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATT CTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGCCC CCAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAG CAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCCTA CGTGACTGACCATT
서열번호 6	CD8 막관통(aa)	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
서열번호 17	CD8 막관통(na)	ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTT CTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
서열번호 7	4-1BB 세포내 도메인(aa)	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
서열번호 18	4-1BB 세포내 도메인(na)	AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACC ATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCT GTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAA CTG
서열번호 8	CD27(aa)	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPA CSP
서열번호 19	CD27(na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA CATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCA GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC

[0203]

서열번호 9	CD3-제타(aa) (Q/K 돌연변이체)	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
서열번호 20	CD3-제타(na) (Q/K 돌연변이체)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAA GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGAC GAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGG GACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCA GGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGG AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGG GGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGC CACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCC CCCTCGC
서열번호 10	CD3-제타(aa) (NCBI 참조 서열 NM_000734.3)	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
서열번호 21	CD3-제타(na) (NCBI 참조 서열 NM_000734.3)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCA GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGAC GAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGG GACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCA GGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGG AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGG GGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGC CACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCC CCCTCGC
서열번호 36	CD28 세포내 도메인(아미노산 서열)	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
서열번호 37	CD28 세포내 도메인(뉴클레오티드 서열)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA CATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCA GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC
서열번호 38	ICOS 세포내 도메인(아미노산 서열)	TKKKYSSSVHDPNGEYMFMRAVNTAKKSRLT DVTL
서열번호 39	ICOS 세포내 도메인(뉴클레오티드 서열)	ACAAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACGG TGAATACATGTTCATGAGAGCAGTGAACACAGCCAAAAAAT CCAGACTCACAGATGTGACCCTA
서열번호 5	GS 힌지/링커(aa)	GGGGSGGGGS

[0204]

서열번호 16	GS 힌지/링커(na)	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC
서열번호 40	GS 힌지/링커(na)	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGGGGTTCC
서열번호 25	링커	GGGGS
서열번호 26	링커	(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)n, 여기서 n = 1~6, 예컨대, GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS
서열번호 27	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
서열번호 28	링커	GGGGSGGGGSGGGGS
서열번호 29	링커	GGGS
서열번호 41	링커	(Gly-Gly-Gly-Ser)n, 여기서 n 은 1 이상의 양의 정수임.
서열번호 42	링커	(Gly-Gly-Gly-Ser)n, 여기서 n = 1~10, 예컨대, GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS GGGSGGGSGG GSGGGSGGGS
서열번호 43	링커	GSTSGSGKPGSGEGSTKG
서열번호 30	폴리 A	$(A)_{5000}$ 이 서열은 50~5000 개의 아데닌을 포함할 수 있다.
서열번호 31	폴리 T	$(T)_{100}$
서열번호 32	폴리 T	$(T)_{5000}$ 이 서열은 50~5000 개의 티민을 포함할 수 있다.
서열번호 33	폴리 A	$(A)_{5000}$ 이 서열은 100~5000 개의 아데닌을 포함할 수 있다.
서열번호 34	폴리 A	$(A)_{400}$ 이 서열은 100~400 개의 아데닌을 포함할 수 있다.
서열번호 35	폴리 A	$(A)_{2000}$ 이 서열은 50~2000 개의 아데닌을 포함할 수 있다.
서열번호 22	PD1 CAR(aa)	pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedr sqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevpta hpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwapl agtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsada paykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayse igmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
서열번호 23	PD-1 CAR(na) (PD1 ECD 는 밑줄 표시됨)	atggccctccctgtcactgccctgcttctccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccgg atggtttctggactctccggatcgcccgtggaatccccccaacctttctcaccggcactcttggttgtgact gagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtac cgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaacccggg acaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgc gctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatc aaagagagcttgaggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgcacatcc atcccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgaccactccggcgccgcgccc accgactccggccccaactatcgcgagccagccccgtcgctgaggccggaagcatgccgccctg ccgccggaggtgctgtgcatacccggggattggacttcgcatgcgacatctacatttgggctcctctc gccggaacttgtggcgtgctccttctgtccctggtcatcaccctgtactgcaagcgggtcggaaaaa

[0205]

[0206] **CAR 항원 결합 도메인**

[0207] 일 양태에서, 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR의 부분은 종양 항원, 예를 들어 본원에 기술된 종양 항원을 표적화하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 일 양태에서, 본 발명의 CAR은 BCMA(예컨대, 인간 BCMA)와 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함한다.

[0208] 항원 결합 도메인은 단클론 항체, 다클론 항체, 재조합 항체, 인간 항체, 인간화 항체 및 단일-도메인 항체, 예컨대 중쇄 가변 도메인(VH), 경쇄 가변 도메인(VL) 및 낙타과 유래 나노바디의 가변 도메인(VHH)을 포함하나 이에 한정되지 않는, 이의 기능적 단편, 및 항원 결합 도메인으로 기능하는 것으로 당해 분야에 공지된 대안적 스캐폴드, 예컨대 재조합 피브로넥틴 도메인 등을 포함하나 이에 한정되지 않는, 항원에 결합하는 임의의 단백질일 수 있다.

[0209] 예시적인 항-BCMA 결합 도메인 아미노산 서열이 표 2 내지 13에 제공되어 있다. 또 다른 양태에서, 항원 결합 도메인은 인간 항체 또는 인간 항체 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 항-BCMA 결합 도메인은 본원(예컨대, 표 2 내지 13)에 기술된 인간 항-BCMA 결합 도메인의 1개 이상의(예컨대, 모든 3개의) LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3, 및/또는 본원(예컨대, 표 2 내지 13)에 기술된 인간 항-BCMA 결합 도메인의 1개 이상의(예컨대, 모

든 3개의) HC CDR1, HC CDR2, 및 HC CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 인간 항-BCMA 결합 도메인은 본원(예컨대, 표 2, 6, 및 10)에 기술된 인간 VL 및/또는 본원(예컨대, 표 2, 6, 및 10)에 기술된 인간 VH를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 2, 6, 및 10의 아미노산 서열의 VL 및 VH를 포함하는 scFv이다. 일 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인(예컨대, an scFv)은 다음을 포함한다: 표 2, 6, 및 10에 제공된 아미노산 서열, 또는 표 2, 6, 및 10에 제공된 아미노산 서열과 95 내지 99%의 동일성을 갖는 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL; 및/또는 표 2, 6, 및 10에 제공된 아미노산 서열, 또는 표 2, 6, 및 10에 제공된 아미노산 서열과 95 내지 99%의 동일성을 갖는 서열의 적어도 1, 2 또는 3개의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖지만, 30, 20 또는 10개 이하의 변형(예컨대, 치환, 예컨대, 보존적 치환)을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH.

[0210] [표 2]

[0211] 예시적인 PALLAS 유래 항-BCMA 분자의 아미노산 및 핵산 서열

서열번호	명칭/설명	서열
R1B6		
서열번호 44	HCDR1 (Kabat)	SYAMS
서열번호 45	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG
서열번호 46	HCDR3 (Kabat)	REWVPYDVSWYFDY
서열번호 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
서열번호 48	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS
서열번호 46	HCDR3 (Chothia)	REWVPYDVSWYFDY
서열번호 49	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
서열번호 50	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
서열번호 51	HCDR3 (IMGT)	ARREWVPYDVSWYFDY
서열번호 52	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWVPYDVSWYFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 53	DNA VH	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGG TGCCCTACGATGTCAGCTGGTACTTCGACTACTGGGGACAGGGC ACTCTCGTGACTGTGTCCTCC
서열번호 54	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
서열번호 55	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
서열번호 56	LCDR3 (Kabat)	QQSYSTPLT
서열번호 57	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY

[0212]

서열번호 58	LCDR2 (Chothia)	AAS
서열번호 59	LCDR3 (Chothia)	SYSTPL
서열번호 60	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
서열번호 58	LCDR2 (IMGT)	AAS
서열번호 56	LCDR3 (IMGT)	QQSYSTPLT
서열번호 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGQGTKVEIK
서열번호 62	DNA VL	GACATTCAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGT GGGAGATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATC TCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCAC CGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTC CCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCT GACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTAC TGTCAGCAGTCATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGAC CAAAGTGGAGATCAAG
서열번호 63	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
서열번호 64	scFv(VH-링커-VL)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWVPYDVSWYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK
서열번호 65	DNA scFv	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGG TGCCCTACGATGTCAGCTGGTACTTCGACTACTGGGGACAGGGC ACTCTCGTGACTGTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGG TGGTTCGGGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATT CAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGAGA TCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCTCCAGC TACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCACCGAAGC TCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCA CGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCAT TAGCAGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAG CAGTCATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGT GGAGATCAAG
서열번호 66	전체 CAR 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWVPYDVSWYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF

		ATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPR
서열번호 67	전체 CAR DNA 서열	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGG TGCCCTACGATGTCAGCTGGTACTTCGACTACTGGGGACAGGGC ACTCTCGTGACTGTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGG TGGTTCGGGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATT CAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGAGA TCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCTCCAGC TACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCACCGAAGC TCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCA CGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCAT TAGCAGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAG CAGTCATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGT GGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCG GCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGC ATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTT GACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCGCTCTGGCTGGTAC TTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAA GCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCA TGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATG CCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGC AGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGA GTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAAT GGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTA CAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAG ATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC GGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATG ACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
R1F2		
서열번호 44	HCDR1 (Kabat)	SYAMS
서열번호 45	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG
서열번호 68	HCDR3 (Kabat)	REWWYDDWYLDY
서열번호 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
서열번호 48	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS

서열번호 68	HCDR3 (Chothia)	REWWYDDWYLDY
서열번호 49	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
서열번호 50	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
서열번호 69	HCDR3 (IMGT)	ARREWWYDDWYLDY
서열번호 70	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWWYDDWYLDYWGQGTLVTVSS
서열번호 71	DNA VH	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGT GGTACGACGATTGGTACCTGGACTACTGGGGACAGGGCACTCT CGTGACTGTGTCCTCC
서열번호 54	LCDR1(Kabat)	RASQSISSYLN
서열번호 55	LCDR2(Kabat)	AASSLQS
서열번호 56	LCDR3(Kabat)	QQSYSTPLT
서열번호 57	LCDR1(Chothia)	SQSISSY
서열번호 58	LCDR2(Chothia)	AAS
서열번호 59	LCDR3(Chothia)	SYSTPL
서열번호 60	LCDR1(IMGT)	QSISSY
서열번호 58	LCDR2(IMGT)	AAS
서열번호 56	LCDR3(IMGT)	QQSYSTPLT
서열번호 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGQGTKVEIK
서열번호 62	DNA VL	GACATTCAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGT GGGAGATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATC TCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCAC CGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTC CCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCT GACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTAC TGTCAGCAGTCATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGAC CAAAGTGGAGATCAAG
서열번호 63	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

서열번호 72	scFv(VH-링커-VL)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWWYDDWYLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK
서열번호 73	DNA scFv	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGT GGTACGACGATTGGTACCTGGACTACTGGGGACAGGGCACTCT CGTGACTGTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGTGGTT CGGGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATTCAAA TGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGAGATCGC GTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCTCCAGCTACC TGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCACCGAAGCTCCT GATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGT TCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGC AGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGT CATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGA GATCAAG
서열번호 74	전체 CAR 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWWYDDWYLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR
서열번호 75	전체 CAR DNA 서열	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGT GGTACGACGATTGGTACCTGGACTACTGGGGACAGGGCACTCT CGTGACTGTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGTGGTT CGGGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATTCAAA TGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGAGATCGC GTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCTCCAGCTACC TGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCACCGAAGCTCCT GATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGT TCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGC AGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGT

		CATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGA GATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCT CCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATG TAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGAC TTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTG CGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGC GCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATG AGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCC GGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAA ATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAG AACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGT ACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGG GCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACA ACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGAT TGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGG ACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
R1G5		
서열번호 44	HCDR1 (Kabat)	SYAMS
서열번호 45	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG
서열번호 76	HCDR3 (Kabat)	REWWGESWLFDY
서열번호 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
서열번호 48	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS
서열번호 76	HCDR3 (Chothia)	REWWGESWLFDY
서열번호 49	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
서열번호 50	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
서열번호 77	HCDR3 (IMGT)	ARREWWGESWLFDY
서열번호 78	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWWGESWLFDYWGQGTLVTVSS
서열번호 79	DNA VH	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGT GGGGAGAAAGCTGGCTGTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCT CGTGACTGTGTCCTCC
서열번호 54	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN

서열번호 55	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
서열번호 56	LCDR3 (Kabat)	QQSYSTPLT
서열번호 57	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY
서열번호 58	LCDR2 (Chothia)	AAS
서열번호 59	LCDR3 (Chothia)	SYSTPL
서열번호 60	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
서열번호 58	LCDR2 (IMGT)	AAS
서열번호 56	LCDR3 (IMGT)	QQSYSTPLT
서열번호 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGQGTKVEIK
서열번호 62	DNA VL	GACATTCAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGT GGGAGATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATC TCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCAC CGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTC CCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCT GACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTAC TGTCAGCAGTCATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGAC CAAAGTGGAGATCAAG
서열번호 63	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
서열번호 80	scFv(VH-링커-VL)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWWGESWLFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK
서열번호 81	DNA scFv	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGT GGGGAGAAAGCTGGCTGTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCT CGTGACTGTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGTGGTT CGGGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATTCAAA TGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGAGATCGC GTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCTCCAGCTACC TGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCACCGAAGCTCCT GATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGT TCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGC AGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGT

		CATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGA GATCAAG
서열번호 82	전체 CAR 아미노산 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARREWWGESWLFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQG LSTATKDTYDALHMQALPPR
서열번호 83	전체 CAR DNA 서열	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCG GAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCTTTACCTTC TCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGG GACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGTTCCGGCGGAAGCAC TTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCCCGGG ACAACTCCAAGAACACCCTGTATCTCCAAATGAATTCCCTGAGG GCCGAAGATACCGCGGTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGT GGGGAGAAAGCTGGCTGTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCT CGTGACTGTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGTGGTT CGGGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATTCAAA TGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGAGATCGC GTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCTCCAGCTACC TGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCACCGAAGCTCCT GATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGT TCTCGGGATCGGGCTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGC AGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGT CATACTCCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGA GATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCT CCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATG TAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGAC TTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTG CGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGC GCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATG AGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCC GGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAA ATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAG AACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGT ACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGG GCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACA ACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGAT TGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGG ACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGAC GCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG

[0213] [표 3]

[0214] 예시적인 PALLAS 유래 항-BCMA 분자의 Kabat CDR

Kabat	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
R1B6	SYAMS (서열번호 44)	AISGSGGSTY YADSVKG (서열번호 45)	REWVPYDVS WYFDY (서열번호 46)	RASQSISS YLN (서열번호 54)	AASSL QS (서열번호 55)	QQSYSTP LT (서열번호 56)
R1F2	SYAMS (서열번호 44)	AISGSGGSTY YADSVKG (서열번호 45)	REWWYDD WYLDY (서열번호 68)	RASQSISS YLN (서열번호 54)	AASSL QS (서열번호 55)	QQSYSTP LT (서열번호 56)
R1G5	SYAMS (서열번호 44)	AISGSGGSTY YADSVKG (서열번호 45)	REWWGESW LFDY (서열번호 76)	RASQSISS YLN (서열번호 54)	AASSL QS (서열번호 55)	QQSYSTP LT (서열번호 56)
컨센서스	SYAMS (서열번호 44)	AISGSGGSTY YADSVKG (서열번호 45)	REWX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$WX$_7$X$_8$DY, 이때, X$_1$은 부존재 또는 V; X$_2$는 부존재 또는 P; X$_3$은 W 또는 Y; X$_4$는 G, Y, 또는 D; X$_5$는 E, D, 또는 V; X$_6$은 S 또는 D; X$_7$은 L 또는 Y; X$_8$은 F 또는 L 임(서열번호 84)	RASQSISS YLN (서열번호 54)	AASSL QS (서열번호 55)	QQSYSTP LT (서열번호 56)

[0215]

[0216] [표 4]

[0217] 예시적인 PALLAS 유래 항-BCMA 분자의 Chothia CDR

Chothia	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
R1B6	GFTFSSY (서열번호 47)	SGSGGS (서열번호 48)	REWVPYDVS WYFDY (서열번호 46)	SQSISSY (서열번호 57)	AAS (서열번호 58)	SYSTPL (서열번호 59)
R1F2	GFTFSSY (서열번호 47)	SGSGGS (서열번호 48)	REWWYDD WYLDY (서열번호 68)	SQSISSY (서열번호 57)	AAS (서열번호 58)	SYSTPL (서열번호 59)
R1G5	GFTFSSY (서열번호 47)	SGSGGS (서열번호 48)	REWWGESW LFDY (서열번호 76)	SQSISSY (서열번호 57)	AAS (서열번호 58)	SYSTPL (서열번호 59)
컨센서스	GFTFSSY (서열번호 47)	SGSGGS (서열번호 48)	REWX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$WX$_7$X$_8$DY, 이때, X$_1$은 부존재 또는 V; X$_2$는 부존재 또는 P; X$_3$은 W 또는 Y; X$_4$는 G, Y, 또는 D; X$_5$는 E, D, 또는 V; X$_6$은 S 또는 D; X$_7$은 L 또는 Y; X$_8$은 F 또는 L 임(서열번호 84)	SQSISSY (서열번호 57)	AAS (서열번호 58)	SYSTPL (서열번호 59)

[0218]

[0219] [표 5]

[0220] 예시적인 PALLAS 유래 항-BCMA 분자의 IMGT CDR

IMGT	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
R1B6	GFTFSSYA (서열번호 49)	ISGSGGST (서열번호 50)	ARREWVPY DVSWYFDY (서열번호 51)	QSISSY (서열번호 60)	AAS (서열번호 58)	QQSYSTP LT (서열번호 56)
R1F2	GFTFSSYA (서열번호 49)	ISGSGGST (서열번호 50)	ARREWWYD DWYLDY (서열번호 69)	QSISSY (서열번호 60)	AAS (서열번호 58)	QQSYSTP LT (서열번호 56)
R1G5	GFTFSSYA (서열번호 49)	ISGSGGST (서열번호 50)	ARREWWGE SWLFDY (서열번호 77)	QSISSY (서열번호 60)	AAS (서열번호 58)	QQSYSTP LT (서열번호 56)
컨센서스	GFTFSSYA (서열번호 49)	ISGSGGST (서열번호 50)	ARREWX$_1$X$_2$ X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$WX$_7$ X$_8$DY, 이때, X$_1$ 은 부존재 또는 V; X$_2$ 는 부존재 또는 P; X$_3$ 은 W 또는 Y; X$_4$ 는 G, Y, 또는 D; X$_5$ 는 E, D, 또는 V; X$_6$ 은 S 또는 D; X$_7$ 은 L 또는 Y; X$_8$ 은 F 또는 L 임(서열번호 85)	QSISSY (서열번호 60)	AAS (서열번호 58)	QQSYSTP LT (서열번호 56)

[0221]

[0222] [표 6]

[0223] 예시적인 B 세포 유래 항-BCMA 분자의 아미노산 및 핵산 서열

서열번호	명칭/ 설명	서열
PI61		
서열번호 86	HCDR1 (Kabat)	SYGMH
서열번호 87	HCDR2 (Kabat)	VISYDGSNKYYADSVKG
서열번호 88	HCDR3 (Kabat)	SGYALHDDYYGLDV
서열번호 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
서열번호 89	HCDR2 (Chothia)	SYDGSN

[0224]

서열번호 88	HCDR3 (Chothia)	SGYALHDDYYGLDV
서열번호 90	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYG
서열번호 91	HCDR2 (IMGT)	ISYDGSNK
서열번호 92	HCDR3 (IMGT)	GGSGYALHDDYYGLDV
서열번호 93	VH	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSS
서열번호 94	DNA VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCCGGTGGCGGAGTCGTGCAGCCTGG AAGGAGCCTGAGACTCTCATGCGCCGCGTCAGGGTTCACCTTTT CCTCCTACGGGATGCATTGGGTCAGACAGGCCCCCGGAAAGGGA CTCGAATGGGTGGCTGTGATCAGCTACGACGGCTCCAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACTATCTCCCGGGACA ACTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAATTCACTGCGCGCG GAGGATACCGCTGTGTACTACTGCGGTGGCTCCGGTTACGCCCT GCACGATGACTATTACGGCCTTGACGTCTGGGGCCAGGGAACCC TCGTGACTGTGTCCAGC
서열번호 95	LCDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
서열번호 96	LCDR2 (Kabat)	DVSNRPS
서열번호 97	LCDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLYV
서열번호 98	LCDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
서열번호 99	LCDR2 (Chothia)	DVS
서열번호 100	LCDR3 (Chothia)	YTSSSTLY
서열번호 101	LCDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
서열번호 99	LCDR2 (IMGT)	DVS
서열번호 97	LCDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYV
서열번호 102	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAP KLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTLYVFGSGTKVTVL
서열번호 103	DNA VL	CAGAGCGCACTGACTCAGCCGGCATCCGTGTCCGGTAGCCCCGG ACAGTCGATTACCATCTCCTGTACCGGCACCTCCTCCGACGTGG GAGGGTACAACTACGTGTCGTGGTACCAGCAGCACCCAGGAAA GGCCCCTAAGTTGATGATCTACGATGTGTCAAACCGCCCGTCTG GAGTCTCCAACCGGTTCTCCGGCTCCAAGTCCGGCAACACCGCC AGCCTGACCATTAGCGGGCTGCAAGCCGAGGATGAGGCCGACT ACTACTGCTCGAGCTACACATCCTCGAGCACCCTCTACGTGTTCG GCTCGGGGACTAAGGTCACCGTGCTG
서열번호 104	링커	GGGGSGGGGSGGGGS

서열번호 105	scFv(VH-링커-VL)	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQH PGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYTSSSTLYVFGSGTKVTVL
서열번호 106	DNA scFv	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCCGGTGGCGGAGTCGTGCAGCCTGG AAGGAGCCTGAGACTCTCATGCGCCGCGTCAGGGTTCACCTTTT CCTCCTACGGGATGCATTGGGTCAGACAGGCCCCCGGAAAGGGA CTCGAATGGGTGGCTGTGATCAGCTACGACGGCTCCAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACTATCTCCCGGGACA ACTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAATTCACTGCGCGCG GAGGATACCGCTGTGTACTACTGCGGTGGCTCCGGTTACGCCCT GCACGATGACTATTACGGCCTTGACGTCTGGGGCCAGGGAACCC TCGTGACTGTGTCCAGCGGTGGAGGAGGTTCGGGCGGAGGAGG ATCAGGAGGGGGTGGATCGCAGAGCGCACTGACTCAGCCGGCA TCCGTGTCCGGTAGCCCCGGACAGTCGATTACCATCTCCTGTACC GGCACCTCCTCCGACGTGGGAGGGTACAACTACGTGTCGTGGTA CCAGCAGCACCCAGGAAAGGCCCCTAAGTTGATGATCTACGATG TGTCAAACCGCCCGTCTGGAGTCTCCAACCGGTTCTCCGGCTCCA AGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCATTAGCGGGCTGCAAGCC GAGGATGAGGCCGACTACTACTGCTCGAGCTACACATCCTCGAG CACCCTCTACGTGTTCGGCTCGGGGACTAAGGTCACCGTGCTG
서열번호 107	전체 CAR 아미노산 서열	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQH PGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYTSSSTLYVFGSGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR
서열번호 108	전체 CAR DNA 서열	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCCGGTGGCGGAGTCGTGCAGCCTGG AAGGAGCCTGAGACTCTCATGCGCCGCGTCAGGGTTCACCTTTT CCTCCTACGGGATGCATTGGGTCAGACAGGCCCCCGGAAAGGGA CTCGAATGGGTGGCTGTGATCAGCTACGACGGCTCCAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACTATCTCCCGGGACA ACTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAATTCACTGCGCGCG GAGGATACCGCTGTGTACTACTGCGGTGGCTCCGGTTACGCCCT GCACGATGACTATTACGGCCTTGACGTCTGGGGCCAGGGAACCC TCGTGACTGTGTCCAGCGGTGGAGGAGGTTCGGGCGGAGGAGG ATCAGGAGGGGGTGGATCGCAGAGCGCACTGACTCAGCCGGCA TCCGTGTCCGGTAGCCCCGGACAGTCGATTACCATCTCCTGTACC GGCACCTCCTCCGACGTGGGAGGGTACAACTACGTGTCGTGGTA CCAGCAGCACCCAGGAAAGGCCCCTAAGTTGATGATCTACGATG TGTCAAACCGCCCGTCTGGAGTCTCCAACCGGTTCTCCGGCTCCA AGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCATTAGCGGGCTGCAAGCC GAGGATGAGGCCGACTACTACTGCTCGAGCTACACATCCTCGAG CACCCTCTACGTGTTCGGCTCGGGGACTAAGGTCACCGTGCTGA

		CCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATC GCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGC AGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCG ATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGC TGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGA AGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAG ACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGA GGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC GCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAA CGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACA AGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAG AAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGAT AAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAC GCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAG CACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCC TGCCGCCTCGG
B61-02		
서열번호 86	HCDR1 (Kabat)	SYGMH
서열번호 109	HCDR2 (Kabat)	VISYKGSNKYYADSVKG
서열번호 88	HCDR3 (Kabat)	SGYALHDDYYGLDV
서열번호 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
서열번호 110	HCDR2 (Chothia)	SYKGSN
서열번호 88	HCDR3 (Chothia)	SGYALHDDYYGLDV
서열번호 90	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYG
서열번호 111	HCDR2 (IMGT)	ISYKGSNK
서열번호 92	HCDR3 (IMGT)	GGSGYALHDDYYGLDV
서열번호 112	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSS
서열번호 113	DNA VH	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGG ACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGATTCACCTTCTC GAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGCCCCAGGAAAGGGC CTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTACAAGGGCTCAAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGATA ACTCCAAGAATACCCTCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCC GAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCT GCACGACGACTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTC TTGTGACCGTGTCCTCT
서열번호 95	LCDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
서열번호 114	LCDR2 (Kabat)	EVSNRLR

서열번호 115	LCDR3 (Kabat)	SSYTSSSALYV
서열번호 98	LCDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
서열번호 116	LCDR2 (Chothia)	EVS
서열번호 117	LCDR3 (Chothia)	YTSSSALY
서열번호 101	LCDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
서열번호 116	LCDR2 (IMGT)	EVS
서열번호 115	LCDR3 (IMGT)	SSYTSSSALYV
서열번호 118	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAP KLMIYEVSNRLRGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSS YTSSSALYVFGSGIKVTVL
서열번호 119	DNA VL	CAGAGCGCGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGG ACAGTCCATTACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTGG GAGGCTACAACTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCGGAAAG GCCCCGAAGCTGATGATCTACGAAGTGTCGAACAGACTGCGGGG AGTCTCCAACCGCTTTTCCGGGTCCAAGTCCGGCAACACCGCCA GCCTGACCATCAGCGGGCTCCAGGCAGAAGATGAGGCTGACTAT TACTGCTCCTCCTACACGTCAAGCTCCGCCCTCTACGTGTTCGGG TCCGGGACCAAAGTCACTGTGCTG
서열번호 63	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
서열번호 120	scFv(VH-링커-VL)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYEVSNRLRGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCSSYTSSSALYVFGSGIKVTVL
서열번호 121	DNA scFv	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGG ACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGATTCACCTTCTC GAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGCCCCAGGAAAGGGC CTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTACAAGGGCTCAAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGATA ACTCCAAGAATACCCTCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCC GAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCT GCACGACGACTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTC TTGTGACCGTGTCCTCTGGTGGAGGCGGATCAGGGGGTGGCGGA TCTGGGGGTGGTGGTTCCGGGGGAGGAGGATCGCAGAGCGCGC TGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGGACAGTCCATT ACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTGGGAGGCTACAA CTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCGGAAAGGCCCCGAAGC TGATGATCTACGAAGTGTCGAACAGACTGCGGGGAGTCTCCAAC CGCTTTTCCGGGTCCAAGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCAT CAGCGGGCTCCAGGCAGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCT CCTACACGTCAAGCTCCGCCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACC AAAGTCACTGTGCTG

서열번호 122	전체 CAR 아미노산 서열	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYEVSNRLRGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCSSYTSSSALYVFGSGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT LYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELR VKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
서열번호 123	전체 CAR DNA 서열	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGG ACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGATTCACCTTCTC GAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGCCCCAGGAAAGGGC CTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTACAAGGGCTCAAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGATA ACTCCAAGAATACCCTCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCC GAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCT GCACGACGACTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTC TTGTGACCGTGTCCTCTGGTGGAGGCGGATCAGGGGGTGGCGGA TCTGGGGGTGGTGGTTCCGGGGGAGGAGGATCGCAGAGCGCGC TGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGGACAGTCCATT ACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTGGGAGGCTACAA CTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCGGAAAGGCCCCGAAGC TGATGATCTACGAAGTGTCGAACAGACTGCGGGGAGTCTCCAAC CGCTTTTCCGGGTCCAAGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCAT CAGCGGGCTCCAGGCAGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCT CCTACACGTCAAGCTCCGCCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACC AAAGTCACTGTGCTGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCAC CCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGA GGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTC TTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTA CTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTA AGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTC ATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATG CCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCA GAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGT ACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTG GTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACT GTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
B61-10		
서열번호 86	HCDR1 (Kabat)	SYGMH
서열번호 109	HCDR2 (Kabat)	VISYKGSNKYYADSVKG
서열번호 88	HCDR3 (Kabat)	SGYALHDDYYGLDV

서열번호 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
서열번호 110	HCDR2 (Chothia)	SYKGSN
서열번호 88	HCDR3 (Chothia)	SGYALHDDYYGLDV
서열번호 90	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYG
서열번호 111	HCDR2 (IMGT)	ISYKGSNK
서열번호 92	HCDR3 (IMGT)	GGSGYALHDDYYGLDV
서열번호 112	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSS
서열번호 113	DNA VH	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGG ACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGATTCACCTTCTC GAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGCCCCAGGAAAGGGC CTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTACAAGGGCTCAAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGATA ACTCCAAGAATACCCTCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCC GAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCT GCACGACGACTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTC TTGTGACCGTGTCCTCT
서열번호 95	LCDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
서열번호 114	LCDR2 (Kabat)	EVSNRLR
서열번호 97	LCDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLYV
서열번호 98	LCDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
서열번호 116	LCDR2 (Chothia)	EVS
서열번호 100	LCDR3 (Chothia)	YTSSSTLY
서열번호 101	LCDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
서열번호 116	LCDR2 (IMGT)	EVS
서열번호 97	LCDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYV
서열번호 124	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAP KLMIYEVSNRLRGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSS YTSSSTLYVFGSGTKVTVL
서열번호 125	DNA VL	CAGAGCGCGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGG ACAGTCCATTACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTGG GAGGCTACAACTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCGGAAAG GCCCCGAAGCTGATGATCTACGAAGTGTCGAACAGACTGCGGGG AGTCTCCAACCGCTTTTCCGGGTCCAAGTCCGGCAACACCGCCA GCCTGACCATCAGCGGGCTCCAGGCAGAAGATGAGGCTGACTAT

		TACTGCTCCTCCTACACGTCAAGCTCCACCCTCTACGTGTTCGGG TCCGGGACCAAAGTCACTGTGCTG
서열번호 63	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
서열번호 126	scFv(VH-링커-VL)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYEVSNRLRGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCSSYTSSSTLYVFGSGTKVTVL
서열번호 127	DNA scFv	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGG ACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGATTCACCTTCTC GAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGCCCCAGGAAAGGGC CTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTACAAGGGCTCAAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGATA ACTCCAAGAATACCCTCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCC GAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCT GCACGACGACTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTC TTGTGACCGTGTCCTCTGGTGGAGGCGGATCAGGGGGTGGCGGA TCTGGGGGTGGTGGTTCCGGGGGAGGAGGATCGCAGAGCGCGC TGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGGACAGTCCATT ACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTGGGAGGCTACAA CTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCGGAAAGGCCCCGAAGC TGATGATCTACGAAGTGTCGAACAGACTGCGGGGAGTCTCCAAC CGCTTTTCCGGGTCCAAGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCAT CAGCGGGCTCCAGGCAGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCT CCTACACGTCAAGCTCCACCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACC AAAGTCACTGTGCTG
서열번호 128	전체 CAR 아미노산 서열	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYEVSNRLRGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCSSYTSSSTLYVFGSGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT LYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELR VKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
서열번호 129	전체 CAR DNA 서열	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGG ACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGATTCACCTTCTC GAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGCCCCAGGAAAGGGC CTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTACAAGGGCTCAAACAAGTA CTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGATA ACTCCAAGAATACCCTCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCC GAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCT GCACGACGACTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTC TTGTGACCGTGTCCTCTGGTGGAGGCGGATCAGGGGGTGGCGGA TCTGGGGGTGGTGGTTCCGGGGGAGGAGGATCGCAGAGCGCGC TGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGGACAGTCCATT ACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTGGGAGGCTACAA CTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCGGAAAGGCCCCGAAGC

		TGATGATCTACGAAGTGTCGAACAGACTGCGGGGAGTCTCCAAC CGCTTTTCCGGGTCCAAGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCAT CAGCGGGCTCCAGGCAGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCT CCTACACGTCAAGCTCCACCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACC AAAGTCACTGTGCTGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCAC CCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGA GGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTC TTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTA CTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTA AGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTC ATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATG CCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG AAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCA GAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGT ACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTG GTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACT GTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG

[0225] [표 7]

[0226] 예시적인 B 세포 유래 항-BCMA 분자의 Kabat CDR

Kabat	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PI61	SYGMH (서열번호 86)	VISYDGSNKYYADSVKG (서열번호 87)	SGYALHDDYYGLDV (서열번호 88)	TGTSSDVGGYNYVS (서열번호 95)	DVSNRPS (서열번호 96)	SSYTSSSTLYV (서열번호 97)
B61-02	SYGMH (서열번호 86)	VISYKGSNKYYADSVKG (서열번호 109)	SGYALHDDYYGLDV (서열번호 88)	TGTSSDVGGYNYVS (서열번호 95)	EVSNRLR (서열번호 114)	SSYTSSSALYV (서열번호 115)
B61-10	SYGMH (서열번호 86)	VISYKGSNKYYADSVKG (서열번호 109)	SGYALHDDYYGLDV (서열번호 88)	TGTSSDVGGYNYVS (서열번호 95)	EVSNRLR (서열번호 114)	SSYTSSSTLYV (서열번호 97)
컨센서스	SYGMH (서열번호 86)	VISYXGSNKYYADSVKG, 이때, X는 D 또는 K 임(서열번호 130)	SGYALHDDYYGLDV (서열번호 88)	TGTSSDVGGYNYVS (서열번호 95)	X_1VSNRX_2X_3, 이때, X_1은 D 또는 E; X_2는 P 또는 L; X_3은 S 또는 R 임(서열번호 131)	SSYTSSSXLYV, 이때, X는 T 또는 A 임(서열번호 132)

[0227]

[0228] [표 8]

[0229] 예시적인 B 세포 유래 항-BCMA 분자의 Chothia CDR

Chothia	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PI61	GFTFSSY (서열번호 47)	SYDGSN (서열번호 89)	SGYALHDDYYGLDV (서열번호 88)	TSSDVGGYNY (서열번호 98)	DVS (서열번호 99)	YTSSSTLY (서열번호 100)
B61-02	GFTFSSY (서열번호 47)	SYKGSN (서열번호 110)	SGYALHDDYYGLDV (서열번호 88)	TSSDVGGYNY (서열번호 98)	EVS (서열번호 116)	YTSSSALY (서열번호 117)
B61-10	GFTFSSY (서열번호 47)	SYKGSN (서열번호 110)	SGYALHDDYYGLDV (서열번호 88)	TSSDVGGYNY (서열번호 98)	EVS (서열번호 116)	YTSSSTLY (서열번호 100)
컨센서스	GFTFSSY (서열번호 47)	SYXGSN, 이때, X는 D 또는 K 임(서열번호 133)	SGYALHDDYYGLDV (서열번호 88)	TSSDVGGYNY (서열번호 98)	XVS, 이때, X는 D 또는 E 임(서열번호 134)	YTSSSXLY, 이때, X는 T 또는 A 임(서열번호 135)

[0230]

[0231] [표 9]

[0232] 예시적인 B 세포 유래 항-BCMA 분자의 IMGT CDR

IMGT	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PI61	GFTFSSYG (서열번호 90)	ISYDGSNK (서열번호 91)	GGSGYALHDDYYGLDV (서열번호 92)	SSDVGGYNY (서열번호 101)	DVS (서열번호 99)	SSYTSSSTLYV (서열번호 97)
B61-02	GFTFSSYG (서열번호 90)	ISYKGSNK (서열번호 111)	GGSGYALHDDYYGLDV (서열번호 92)	SSDVGGYNY (서열번호 101)	EVS (서열번호 116)	SSYTSSSALYV (서열번호 115)
B61-10	GFTFSSYG (서열번호 90)	ISYKGSNK (서열번호 111)	GGSGYALHDDYYGLDV (서열번호 92)	SSDVGGYNY (서열번호 101)	EVS (서열번호 116)	SSYTSSSTLYV (서열번호 97)
컨센서스	GFTFSSYG (서열번호 90)	ISYXGSNK, 이때, X는 D 또는 K 임(서열번호 136)	GGSGYALHDDYYGLDV (서열번호 92)	SSDVGGYNY (서열번호 101)	XVS, 이때, X는 D 또는 E 임(서열번호 134)	SSYTSSSXLYV, 이때, X는 T 또는 A 임(서열번호 132)

[0233]

[0234] [표 18]

[0235] PI61에 기초한 예시적인 항-BCMA 분자의 아미노산 및 핵산 서열

식별	단백질 서열	DNA 서열(5'-3')
신호 펩티드	MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열번호 1)	Atggccctccctgtcaccgctctgttgctgccgcttgctctgctgctccacgcagccgccgaccg (서열번호 252)
PI61 VH	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSS (서열번호 93)	CAGGTACAATTGCAGGAGTCTGGAGGCGGTGTGGTGCAACCCGGTCGCAGCTTGCGCCTGAGTTGTGCTGCGTCTGGATTTACATTTTCATCTTACGGAATGCATTGGGTACGCCAGGCACCGGGGAAAGGCCTTGAATGGGTGGCTGTAATTTCATACGATGGTTCCAACAAATACTATGCTGACTCAGTCAAGGGTCGATTTACAATTAGTCGGGACAACTCCAAGAACACCCTTTATCTTCAAATGAATTCCCTTAGAGCAGAGG

[0236]

		ATACGGCGGTCTATTACTGTGGTGGCA GTGGTTATGCACTTCATGATGATTACT ATGGCTTGGATGTCTGGGGGCAAGGG ACGCTTGTAACTGTATCCTCT (서열번호 260)
PI61 VL	QSALTQPASVSGSPGQSITIS CTGTSSDVGGYNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVSNRPS GVSNRFSGSKSGNTASLTIS GLQAEDEADYYCSSYTSSST LYVFGSGTKVTVL (서열번호 102)	CAATCTGCTCTGACTCAACCAGCAAGC GTATCAGGGTCACCGGGACAGAGTATT ACCATAAGTTGCACGGGGACCTCTAGC GATGTAGGGGGGTATAATTATGTATCT TGGTATCAACAACACCCCGGGAAAGC CCCTAAATTGATGATCTACGACGTGAG CAATCGACCTAGTGGCGTATCAAATCG CTTCTCTGGTAGCAAGAGTGGGAATAC GGCGTCCCTTACTATTAGCGGATTGCA AGCAGAAGATGAGGCCGATTACTACT GCAGCTCCTATACTAGCTCTTCTACAT TGTACGTCTTTGGGAGCGGAACAAAA GTAACAGTACTC (서열번호 261)
링커	GGGGSGGGGSGGGGS (서열번호 104)	
ScFv PI61	QVQLQESGGGVVQPGRSLR LSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAVISYDGSN KYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYY CGGSGYALHDDYYGLDVW GQGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQSALTQPASVSGSP GQSITISCTGTSSDVGGYNY VSWYQQHPGKAPKLMIYD VSNRPSGVSNRFSGSKSGNT ASLTISGLQAEDEADYYCSS YTSSSTLYVFGSGTKVTVL (서열번호 105)	CaggtacaattgcaggagtctggaggcggtgtgGtgcaacc cggtcgcagcttgcgcctgagttgtGctgcgtctggatttacatt ttcatcttacggaAtgcattgggtacgccaggcaccggggaa aggcCttgaatgggtggctgtaatttcatacgatggtTccaac aaatactatgctgactcagtcaagggtCgatttacaattagtcg ggacaactccaagaacAccctttatcttcaaatgaattcccttag agcaGaggatacggcggtctattactgtggtggcagtGgttat gcacttcatgatgattactatggcttgGatgtctgggggcaagg gacgcttgtaactgtaTcctctggtggtggtggtagtggtggg ggaggcTccggcggtggcggctctcaatctgctctgactCaa ccagcaagcgtatcagggtcaccgggacagAgtattaccata agttgcacggggacctctagcGatgtaggggggtataattatg tatcttggtatCaacaacaccccgggaaagcccctaaattgatg AtctacgacgtgagcaatcgacctagtggcgtaTcaaatcgc ttctctggtagcaagagtgggaatAcggcgtcccttactattag cggattgcaagcaGaagatgaggccgattactactgcagctc ctatActagctcttctacattgtacgtctttgggagcggaacaaa agtaacagtactc (서열번호 253)
막관통 도메인 및 힌지	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLS LRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLL LSLVITLYC (서열번호 202)	AcaacaacacctgccccgagaccgcctacaccaGccccga ctattgccagccagcctctgagcctcAggcctgaggcctgtag gcccgcagcgggcggcGcagttcatacacggggcttggattt cgcttgtGatatttatatttgggctcctttggcggggacaTgtgg cgtgctgcttctgtcacttgttattacactgtactgt (서열번호 254)
4-1BB	KRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGG CEL (서열번호 7)	AaacgcgggcgaaaaaaattgctgtatatttttAagcagccat ttatgaggcccgttcagacgacgCaggaggaggacggttgct cttgcaggttcccagaagaggaagaaggggctgtgaattg (서열번호 255)
CD3 제타	RVKFSRSADAPAYQQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKR	CgggttaaattttcaagatccgcagacgctccaGcataccaac agggacaaaaccaactctataacGagctgaatcttggaagaa

	RGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGHDGLYQGLST ATKDTYDALHMQALPPR (서열번호 10)	gggaggaatatgatGtgctggataaacggcgcggtagagatc cggagAtgggcggaaaaccaaggcgaaaaaaccctcagG agggactctacaacgaactgcagaaagacaaaAtggcggag gcttattccgaaataggcatgaagGgcgagcggaggcgagg gaaagggcacgacggaCtgtatcaaggcctctcaaccgcga ctaaggatAcgtacgacgccctgcacatgcaggccctgcctc cgaga (서열번호 256)
PI61 전체 CAR 구축물	MALPVTALLLPLALLLHAA RPQVQLQESGGGVVQPGRS LRLSCAASGFTFSSYGMHW VRQAPGKGLEWVAVISYDG SNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCGGSGYALHDDYYGLDV WGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQSALTQPASVS GSPGQSITISCTGTSSDVGGY NYVSWYQQHPGKAPKLMI YDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYC SSYTSSSTLYVFGSGTKVTV LTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYIWAPLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR (서열번호 257)	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCTCTGTTG CTGCCGCTTGCTCTGCTGCTCCACGCA GCGCGACCGCAGGTACAATTGCAGGA GTCTGGAGGCGGTGTGGTGCAACCCG GTCGCAGCTTGCGCCTGAGTTGTGCTG CGTCTGGATTTACATTTTCATCTTACGG AATGCATTGGGTACGCCAGGCACCGG GGAAAGGCCTTGAATGGGTGGCTGTA ATTTCATACGATGGTTCCAACAAATAC TATGCTGACTCAGTCAAGGGTCGATTT ACAATTAGTCGGGACAACTCCAAGAA CACCCTTTATCTTCAAATGAATTCCCTT AGAGCAGAGGATACGGCGGTCTATTA CTGTGGTGGCAGTGGTTATGCACTTCA TGATGATTACTATGGCTTGGATGTCTG GGGGCAAGGGACGCTTGTAACTGTATC CTCTGGTGGTGGTGGTAGTGGTGGGGG AGGCTCCGGCGGTGGCGGCTCTCAATC TGCTCTGACTCAACCAGCAAGCGTATC AGGGTCACCGGGACAGAGTATTACCA TAAGTTGCACGGGGACCTCTAGCGATG TAGGGGGGTATAATTATGTATCTTGGT ATCAACAACACCCCGGGAAAGCCCCT AAATTGATGATCTACGACGTGAGCAAT CGACCTAGTGGCGTATCAAATCGCTTC TCTGGTAGCAAGAGTGGGAATACGGC GTCCCTTACTATTAGCGGATTGCAAGC AGAAGATGAGGCCGATTACTACTGCA GCTCCTATACTAGCTCTTCTACATTGTA CGTCTTTGGGAGCGGAACAAAAGTAA CAGTACTCACAACAACACCTGCCCCGA GACCGCCTACACCAGCCCCGACTATTG CCAGCCAGCCTCTGAGCCTCAGGCCTG AGGCCTGTAGGCCCGCAGCGGGCGGC GCAGTTCATACACGGGGCTTGGATTTC GCTTGTGATATTTATATTTGGGCTCCTT TGGCGGGGACATGTGGCGTGCTGCTTC TGTCACTTGTTATTACACTGTACTGTA AACGCGGGCGAAAAAAATTGCTGTAT ATTTTTAAGCAGCCATTTATGAGGCCC GTTCAGACGACGCAGGAGGAGGACGG TTGCTCTTGCAGGTTCCCAGAAGAGGA AGAAGGGGGCTGTGAATTGCGGGTTA AATTTTCAAGATCCGCAGACGCTCCAG

		CATACCAACAGGGACAAAACCAACTC TATAACGAGCTGAATCTTGGAAGAAG GGAGGAATATGATGTGCTGGATAAAC GGCGCGGTAGAGATCCGGAGATGGGC GGAAAACCAAGGCGAAAAAACCCTCA GGAGGGACTCTACAACGAACTGCAGA AAGACAAAATGGCGGAGGCTTATTCC GAAATAGGCATGAAGGGCGAGCGGAG GCGAGGGAAAGGGCACGACGGACTGT ATCAAGGCCTCTCAACCGCGACTAAGG ATACGTACGACGCCCTGCACATGCAGG CCCTGCCTCCGAGA (서열번호 258)
PI61 성숙 CAR 단백질	QVQLQESGGGVVQPGRSLR LSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAVISYDGSN KYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYY CGGSGYALHDDYYGLDVW GQGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSQSALTQPASVSGSP GQSITISCTGTSSDVGGYNY VSWYQQHPGKAPKLMIYD VSNRPSGVSNRFSGSKSGNT ASLTISGLQAEDEADYYCSS YTSSSTLYVFGSGTKVTVLT TTPAPRPPTPAPTIASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDIYIWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCR FPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR (서열번호 107)	caggtacaattgcaggagtctggaggcggtgtggtgcaaccc ggtcgcagcttgcgcctgagttgtgctgcgtctggatttacatttt catcttacggaatgcattgggtacgccaggcaccggggaaag gccttgaatgggtggctgtaatttcatacgatggttccaacaaat actatgctgactcagtcaagggtcgatttacaattagtcgggac aactccaagaacaccctttatcttcaaatgaattcccttagagca gaggatacggcggtctattactgtggtggcagtggttatgcactt catgatgattactatggcttggatgtctgggggcaagggacgct tgtaactgtatcctctggtggtggtggtagtggtgggggaggct ccggcggtggcggctctcaatctgctctgactcaaccagcaag cgtatcagggtcaccgggacagagtattaccataagttgcacg gggacctctagcgatgtaggggggtataattatgtatcttggtat caacaacacccgggaaagccctaaattgatgatctacgacg tgagcaatcgacctagtggcgtatcaaatcgcttctctggtagc aagagtgggaatacggcgtcccttactattagcggattgcaag cagaagatgaggccgattactactgcagctcctatactagctctt ctacattgtacgtctttgggagcggaacaaaagtaacagtactc acaacaacacctgccccgagaccgcctacaccagccccgact attgccagccagcctctgagcctcaggcctgaggcctgtaggc ccgcagcgggcggcgcagttcatacacggggcttggatttcg cttgtgatatttatatttgggctcctttggcggggacatgtggcgt gctgcttctgtcacttgttattacactgtactgtaaacgcgggcga aaaaaattgctgtatatttttaagcagccatttatgaggcccgttc agacgacgcaggaggaggacggttgctcttgcaggttcccag aagaggaagaaggggggctgtgaattgcgggttaaattttcaag atccgcagacgctccagcatacccaacagggacaaaaccaact ctataacgagctgaatcttggaagaagggaggaatatgatgtg ctggataaacggcgcggtagagatccggagatgggcggaaa accaaggcgaaaaaaccctcaggagggactctacaacgaact gcagaaagacaaaatggcggaggcttattccgaaataggcat gaagggcgagcggaggcgagggaaagggcacgacggact gtatcaaggcctctcaaccgcgactaaggatacgtacgacgcc ctgcacatgcaggccctgcctccgaga (서열번호 259)

[0237] [표 10]

[0238] 예시적인 하이브리도마 유래 항-BCMA 분자의 아미노산 및 핵산 서열

서열번호	명칭/설명	서열
Hv03		
서열번호 137	HCDR1 (Kabat)	GFWMS
서열번호 138	HCDR2 (Kabat)	NIKQDGSEKYYVDSVRG
서열번호 139	HCDR3 (Kabat)	ALDYYGMDV
서열번호 140	HCDR1 (Chothia)	GFTFSGF
서열번호 141	HCDR2 (Chothia)	KQDGSE
서열번호 139	HCDR3 (Chothia)	ALDYYGMDV
서열번호 142	HCDR1 (IMGT)	GFTFSGFW
서열번호 143	HCDR2 (IMGT)	IKQDGSEK
서열번호 144	HCDR3 (IMGT)	ARALDYYGMDV
서열번호 145	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGFWMSWVRQAPGKGL EWVANIKQDGSEKYYVDSVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARALDYYGMDVWGQGTTVTVSS
서열번호 146	DNA VH	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCCAGCCCG GAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGTTCACCTTCT CCGGCTTCTGGATGTCCTGGGTCAGACAGGCACCGGGAAAGGGC CTCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGATGGCTCCGAGAAGT ACTACGTCGACTCCGTGAGAGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGAC AACGCCAAGAACTCGCTGTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGC GGAAGATACTGCTGTGTATTACTGCGCACGCGCCCTTGACTACT ACGGCATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCT AGC
서열번호 147	LCDR1 (Kabat)	RSSQSLLDSDDGNTYLD
서열번호 148	LCDR2 (Kabat)	TLSYRAS
서열번호 149	LCDR3 (Kabat)	TQRLEFPSIT
서열번호 150	LCDR1 (Chothia)	SQSLLDSDDGNTY
서열번호 151	LCDR2 (Chothia)	TLS
서열번호 152	LCDR3 (Chothia)	RLEFPSI
서열번호 153	LCDR1 (IMGT)	QSLLDSDDGNTY

[0239]

서열번호 151	LCDR2 (IMGT)	TLS
서열번호 149	LCDR3 (IMGT)	TQRLEFPSIT
서열번호 154	VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPG QSPRLLIYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC TQRLEFPSITFGQGTRLEIK
서열번호 155	DNA VL	GATATCGTGATGACCCAGACTCCCCTGTCCCTGCCTGTGACTCCC GGAGAACCAGCCTCCATTTCCTGCCGGTCCTCCCAGTCCCTGCTG GACAGCGACGACGGCAACACTTACCTGGACTGGTACTTGCAGAA GCCGGGCCAATCGCCTCGCCTGCTGATCTATACCCTGTCATACCG GGCCTCAGGAGTGCCTGACCGCTTCTCGGGATCAGGGAGCGGGA CCGATTTCACCCTGAAAATTTCCCGAGTGGAAGCCGAGGACGTC GGACTGTACTACTGCACCCAGCGCCTCGAATTCCCGTCGATTAC GTTTGGACAGGGTACCCGGCTTGAGATCAAG
서열번호 63	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
서열번호 156	scFv(VH-링커-VL)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGFWMSWVRQAPGKGL EWVANIKQDGSEKYYVDSVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARALDYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWY LQKPGQSPRLLIYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GLYYCTQRLEFPSITFGQGTRLEIK
서열번호 157	DNA scFv	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCCAGCCCG GAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGTTCACCTTCT CCGGCTTCTGGATGTCCTGGGTCAGACAGGCACCGGGAAAGGGC CTCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGATGGCTCCGAGAAGT ACTACGTCGACTCCGTGAGAGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGAC AACGCCAAGAACTCGCTGTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGC GGAAGATACTGCTGTGTATTACTGCGCACGCGCCCTTGACTACT ACGGCATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCT AGCGGAGGCGGAGGTTCAGGGGGCGGTGGATCAGGCGGAGGAG GATCGGGGGGTGGTGGATCGGATATCGTGATGACCCAGACTCCC CTGTCCCTGCCTGTGACTCCCGGAGAACCAGCCTCCATTTCCTGC CGGTCCTCCCAGTCCCTGCTGGACAGCGACGACGGCAACACTTA CCTGGACTGGTACTTGCAGAAGCCGGGCCAATCGCCTCGCCTGC TGATCTATACCCTGTCATACCGGGCCTCAGGAGTGCCTGACCGC TTCTCGGGATCAGGGAGCGGGACCGATTTCACCCTGAAAATTTC CCGAGTGGAAGCCGAGGACGTCGGACTGTACTACTGCACCCAGC GCCTCGAATTCCCGTCGATTACGTTTGGACAGGGTACCCGGCTT GAGATCAAG
서열번호 158	전체 CAR 아미노산 서열	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGFWMSWVRQAPGKGL EWVANIKQDGSEKYYVDSVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARALDYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWY LQKPGQSPRLLIYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GLYYCTQRLEFPSITFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR

서열번호 159	전체 CAR DNA 서열	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCCAGCCCG GAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGTTCACCTTCT CCGGCTTCTGGATGTCCTGGGTCAGACAGGCACCGGGAAAGGGC CTCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGATGGCTCCGAGAAGT ACTACGTCGACTCCGTGAGAGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGAC AACGCCAAGAACTCGCTGTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGC GGAAGATACTGCTGTGTATTACTGCGCACGCGCCCTTGACTACT ACGGCATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCT AGCGGAGGCGGAGGTTCAGGGGGCGGTGGATCAGGCGGAGGAG GATCGGGGGGTGGTGGATCGGATATCGTGATGACCCAGACTCCC CTGTCCCTGCCTGTGACTCCCGGAGAACCAGCCTCCATTTCCTGC CGGTCCTCCCAGTCCCTGCTGGACAGCGACGACGGCAACACTTA CCTGGACTGGTACTTGCAGAAGCCGGGCCAATCGCCTCGCCTGC TGATCTATACCCTGTCATACCGGGCCTCAGGAGTGCCTGACCGC TTCTCGGGATCAGGGAGCGGGACCGATTTCACCCTGAAAATTTC CCGAGTGGAAGCCGAGGACGTCGGACTGTACTACTGCACCCAGC GCCTCGAATTCCCGTCGATTACGTTTGGACAGGGTACCCGGCTT GAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGC TCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATG TAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACT TCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCG GGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCG GTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGG CCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTT CCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTC AGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACC AGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGAC GTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGA AGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCT CCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATG AAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACC AGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCAC ATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
Hy52		
서열번호 160	HCDR1 (Kabat)	SFRMN
서열번호 161	HCDR2 (Kabat)	SISSSSSYIYYADSVKG
서열번호 162	HCDR3 (Kabat)	WLSYYGMDV
서열번호 163	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSF
서열번호 164	HCDR2 (Chothia)	SSSSSY
서열번호 162	HCDR3 (Chothia)	WLSYYGMDV
서열번호 165	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSFR

서열번호 166	HCDR2 (IMGT)	ISSSSSYI
서열번호 167	HCDR3(IMGT)	ARWLSYYGMDV
서열번호 168	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFRMNWVRQAPGKGL EWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARWLSYYGMDVWGQGTTVTVSS
서열번호 169	DNA VH	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCAAGCCCG GAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGTTCACCTTCT CCTCGTTCCGCATGAACTGGGTCAGACAGGCACCGGGAAAGGGC CTCGAATGGGTGTCCTCAATCTCATCGTCCTCGTCCTACATCTAC TACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGACAA CGCCAAGAACTCGCTGTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGG AAGATACTGCTGTGTATTACTGCGCACGCTGGCTTTCCTACTACG GCATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGC
서열번호 147	LCDR1(Kabat)	RSSQSLLDSDDGNTYLD
서열번호 170	LCDR2(Kabat)	TLSFRAS
서열번호 171	LCDR3(Kabat)	MQRIGFPIT
서열번호 150	LCDR1(Chothia)	SQSLLDSDDGNTY
서열번호 151	LCDR2(Chothia)	TLS
서열번호 172	LCDR3(Chothia)	RIGFPI
서열번호 153	LCDR1(IMGT)	QSLLDSDDGNTY
서열번호 151	LCDR2(IMGT)	TLS
서열번호 171	LCDR3(IMGT)	MQRIGFPIT
서열번호 173	VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPG QSPQLLIYTLSFRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIRRVEAEDVGVYYC MQRIGFPITFGQGTRLEIK
서열번호 174	DNA VL	GATATCGTGATGACCCAGACTCCCCTGTCCCTGCCTGTGACTCCC GGAGAACCAGCCTCCATTTCCTGCCGGTCCTCCCAGTCCCTGCTG GACAGCGACGACGGCAACACTTACCTGGACTGGTACTTGCAGAA GCCGGGCCAATCGCCTCAGCTGCTGATCTATACCCTGTCATTCCG GGCCTCAGGAGTGCCTGACCGCTTCTCGGGATCAGGGAGCGGGA CCGATTTCACCCTGAAAATTAGGCGAGTGGAAGCCGAGGACGTC GGAGTGTACTACTGCATGCAGCGCATCGGCTTCCCGATTACGTTT GGACAGGGTACCCGGCTTGAGATCAAG
서열번호 63	링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
서열번호 175	scFv(VH-링커-VL)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFRMNWVRQAPGKGL EWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARWLSYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQ KPGQSPQLLIYTLSFRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIRRVEAEDVGV YYCMQRIGFPITFGQGTRLEIK

서열번호 176	DNA scFv	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCAAGCCCG GAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGTTCACCTTCT CCTCGTTCCGCATGAACTGGGTCAGACAGGCACCGGGAAAGGGC CTCGAATGGGTGTCCTCAATCTCATCGTCCTCGTCCTACATCTAC TACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGACAA CGCCAAGAACTCGCTGTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGG AAGATACTGCTGTGTATTACTGCGCACGCTGGCTTTCCTACTACG GCATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGC GGAGGCGGAGGTTCAGGGGGCGGTGGATCAGGCGGAGGAGGAT CGGGGGGTGGTGGATCGGATATCGTGATGACCCAGACTCCCCTG TCCCTGCCTGTGACTCCCGGAGAACCAGCCTCCATTTCCTGCCGG TCCTCCCAGTCCCTGCTGGACAGCGACGACGGCAACACTTACCT GGACTGGTACTTGCAGAAGCCGGGCCAATCGCCTCAGCTGCTGA TCTATACCCTGTCATTCCGGGCCTCAGGAGTGCCTGACCGCTTCT CGGGATCAGGGAGCGGGACCGATTTCACCCTGAAAATTAGGCG AGTGGAAGCCGAGGACGTCGGAGTGTACTACTGCATGCAGCGC ATCGGCTTCCCGATTACGTTTGGACAGGGTACCCGGCTTGAGAT CAAG
서열번호 177	전체 CAR 아미노산 서열	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFRMNWVRQAPGKGL EWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARWLSYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQ KPGQSPQLLIYTLSFRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIRRVEAEDVGV YYCMQRIGFPITFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR
서열번호 178	전체 CAR DNA 서열	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCAAGCCCG GAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGTTCACCTTCT CCTCGTTCCGCATGAACTGGGTCAGACAGGCACCGGGAAAGGGC CTCGAATGGGTGTCCTCAATCTCATCGTCCTCGTCCTACATCTAC TACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGACAA CGCCAAGAACTCGCTGTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGG AAGATACTGCTGTGTATTACTGCGCACGCTGGCTTTCCTACTACG GCATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGC GGAGGCGGAGGTTCAGGGGGCGGTGGATCAGGCGGAGGAGGAT CGGGGGGTGGTGGATCGGATATCGTGATGACCCAGACTCCCCTG TCCCTGCCTGTGACTCCCGGAGAACCAGCCTCCATTTCCTGCCGG TCCTCCCAGTCCCTGCTGGACAGCGACGACGGCAACACTTACCT GGACTGGTACTTGCAGAAGCCGGGCCAATCGCCTCAGCTGCTGA TCTATACCCTGTCATTCCGGGCCTCAGGAGTGCCTGACCGCTTCT CGGGATCAGGGAGCGGGACCGATTTCACCCTGAAAATTAGGCG AGTGGAAGCCGAGGACGTCGGAGTGTACTACTGCATGCAGCGC ATCGGCTTCCCGATTACGTTTGGACAGGGTACCCGGCTTGAGAT CAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTA CCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGC CTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGT CCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCG
		GAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTG TGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCA GAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCC GCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCAGCT CTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGC TGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCC GCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAG GGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGG ACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGC AGGCCCTGCCGCCTCGG

[0240] [표 11]

[0241] 예시적인 하이브리도마 유래 항-BCMA 분자의 Kabat CDR

Kabat	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
Hy03	GFWMS (서열번호 137)	NIKQDGSEKYYVDSVRG (서열번호 138)	ALDYYGMDV (서열번호 139)	RSSQSLLDSDDGNTYLD (서열번호 147)	TLSYRAS (서열번호 148)	TQRLEFPSIT (서열번호 149)
Hy52	SFRMN (서열번호 160)	SISSSSSYIYYADSVKG (서열번호 161)	WLSYYGMDV (서열번호 162)	RSSQSLLDSDDGNTYLD (서열번호 147)	TLSFRAS (서열번호 170)	MQRIGFPIT (서열번호 171)
컨센서스	$X_1FX_2MX_3$, 이때, X_1 은 G 또는 S; X_2 는 W 또는 R; X_3 은 S 또는 N 임(서열번호 179)	$X_1IX_2X_3X_4X_5SX_6X_7YYX_8DSVX_9G$, 이때, X_1 은 N 또는 S; X_2 는 K 또는 S; X_3 은 Q 또는 S; X_4 는 D 또는 S; X_5 는 G 또는 S; X_6 은 E 또는 Y; X_7 은 K 또는 I; X_8 은 V 또는 A; X_9 는 R 또는 K 임(서열번호 180)	$X_1LX_2YYGMDV$, 이때, X_1 은 A 또는 W; X_2 는 D 또는 S 임(서열번호 181)	RSSQSLLDSDDGNTYLD (서열번호 147)	TLSXRAS, 이때, X 는 Y 또는 F 임(서열번호 182)	$X_1QRX_2X_3FPX_4IT$, 이때, X_1 은 T 또는 M; X_2 는 L 또는 I; X_3 은 E 또는 G; X_4 는 S 또는 부존재(서열번호 183)

[0242]

[0243] [표 12]

[0244] 예시적인 하이브리도마 유래 항-BCMA 분자의 Chothia CDR

Chothia	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
Hy03	GFTFSGF (서열번호 140)	KQDGSE (서열번호 141)	ALDYYGMDV (서열번호 139)	SQSLLDSDDGNTY (서열번호 150)	TLS (서열번호 151)	RLEFPSI (서열번호 152)
Hy52	GFTFSSF (서열번호 163)	SSSSSY (서열번호 164)	WLSYYGMDV (서열번호 162)	SQSLLDSDDGNTY (서열번호 150)	TLS (서열번호 151)	RIGFPI (서열번호 172)
컨센서스	GFTFSXF, 이때, X 는 G 또는 S 임(서열번호 184)	$X_1X_2X_3X_4SX_5$, 이때, X_1 은 K 또는 S; X_2 는 Q 또는 S; X_3 은 D 또는 S; X_4 는 G 또는 S; X_5 는 E 또는 Y 임(서열번호 185)	$X_1LX_2YYGMDV$, 이때, X_1 은 A 또는 W; X_2 는 D 또는 S 임(서열번호 181)	SQSLLDSDDGNTY (서열번호 150)	TLS (서열번호 151)	$RX_1X_2FPX_3I$, 이때, X_1 은 L 또는 I; X_2 는 E 또는 G; X_3 은 S 또는 부존재(서열번호 186)

[0245]

[0246] [표 13]

[0247] 예시적인 하이브리도마 유래 항-BCMA 분자의 IMGT CDR

IMGT	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
Hy03	GFTFSGFW (서열번호 142)	IKQDGSEK (서열번호 143)	ARALDYYGMDV (서열번호 144)	QSLLDSDDGNTY (서열번호 153)	TLS (서열번호 151)	TQRLEFPSIT (서열번호 149)
Hy52	GFTFSSFR (서열번호 165)	ISSSSSYI (서열번호 166)	ARWLSYYGMDV (서열번호 167)	QSLLDSDDGNTY (서열번호 153)	TLS (서열번호 151)	MQRIGFPIT (서열번호 171)
컨센서스	GFTFSX$_1$FX$_2$, 이때, X$_1$은 G 또는 S; X$_2$는 W 또는 R 임(서열번호 187)	IX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$SX$_5$X$_6$, 이때, X$_1$은 K 또는 S; X$_2$는 Q 또는 S; X$_3$은 D 또는 S; X$_4$는 G 또는 S; X$_5$는 E 또는 Y; X$_6$은 K 또는 I 임(서열번호 188)	ARX$_1$LX$_2$YYGMDV, 이때, X$_1$은 A 또는 W; X$_2$는 D 또는 S 임(서열번호 189)	QSLLDSDDGNTY (서열번호 153)	TLS (서열번호 151)	X$_1$QRX$_2$X$_3$FPX$_4$IT, 이때, X$_1$은 T 또는 M; X$_2$는 L 또는 I; X$_3$은 E 또는 G; X$_4$는 S 또는 부존재(서열번호 183)

[0248]

[0249] 일부 구현예에서, 인간 항-BCMA 결합 도메인은 HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3을 포함한다.

[0250] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 분자 또는 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인은 다음을 포함한다:

[0251] (1) 다음으로부터 선택된 1, 2, 또는 3개의 경쇄(LC) CDR:

[0252] (i) 서열번호 54의 LC CDR1, 서열번호 55의 LC CDR2 및 서열번호 56의 LC CDR3; 및/또는

[0253] (2) 다음 중 하나로부터의 1, 2, 또는 3개의 중쇄(HC) CDR:

[0254] (i) 서열번호 44의 HC CDR1, 서열번호 45의 HC CDR2 및 서열번호 84의 HC CDR3;

[0255] (ii) 서열번호 44의 HC CDR1, 서열번호 45의 HC CDR2 및 서열번호 46의 HC CDR3;

[0256] (iii) 서열번호 44의 HC CDR1, 서열번호 45의 HC CDR2 및 서열번호 68의 HC CDR3; 또는

[0257] (iv) 서열번호 44의 HC CDR1, 서열번호 45의 HC CDR2 및 서열번호 76의 HC CDR3.

[0258] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 분자 또는 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인은 다음을 포함한다:

[0259] (1) 다음 중 하나로부터의 1, 2, 또는 3개의 경쇄(LC) CDR:

[0260] (i) 서열번호 95의 LC CDR1, 서열번호 131의 LC CDR2 및 서열번호 132의 LC CDR3;

[0261] (ii) 서열번호 95의 LC CDR1, 서열번호 96의 LC CDR2 및 서열번호 97의 LC CDR3;

[0262] (iii) 서열번호 95의 LC CDR1, 서열번호 114의 LC CDR2 및 서열번호 115의 LC CDR3; 또는

[0263] (iv) 서열번호 95의 LC CDR1, 서열번호 114의 LC CDR2 및 서열번호 97의 LC CDR3; 및/또는

[0264] (2) 다음 중 하나로부터의 1, 2, 또는 3개의 중쇄(HC) CDR:

[0265] (i) 서열번호 86의 HC CDR1, 서열번호 130의 HC CDR2 및 서열번호 88의 HC CDR3;

[0266] (ii) 서열번호 86의 HC CDR1, 서열번호 87의 HC CDR2 및 서열번호 88의 HC CDR3; 또는

[0267] (iii) 서열번호 86의 HC CDR1, 서열번호 109의 HC CDR2 및 서열번호 88의 HC CDR3.

[0268] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 분자 또는 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인은 다음을 포함한다:

[0269] (1) 다음 중 하나로부터의 1, 2, 또는 3개의 경쇄(LC) CDR:

[0270] (i) 서열번호 147의 LC CDR1, 서열번호 182의 LC CDR2 및 서열번호 183의 LC CDR3;

[0271] (ii) 서열번호 147의 LC CDR1, 서열번호 148의 LC CDR2 및 서열번호 149의 LC CDR3; 또는

[0272] (iii) 서열번호 147의 LC CDR1, 서열번호 170의 LC CDR2 및 서열번호 171의 LC CDR3; 및/또는

[0273] (2) 다음 중 하나로부터의 1, 2, 또는 3개의 중쇄(HC) CDR:

[0274] (i) 서열번호 179의 HC CDR1, 서열번호 180의 HC CDR2 및 서열번호 181의 HC CDR3;

[0275] (ii) 서열번호 137의 HC CDR1, 서열번호 138의 HC CDR2 및 서열번호 139의 HC CDR3; 또는

[0276] (iii) 서열번호 160의 HC CDR1, 서열번호 161의 HC CDR2 및 서열번호 162의 HC CDR3.

[0277] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 44, 45, 84, 54, 55, 및 56의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 44, 45, 46, 54, 55, 및 56의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 44, 45, 68, 54, 55, 및 56의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 44, 45, 76, 54, 55, 및 56의 아미노산 서열을 포함한다.

[0278] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 47, 48, 84, 57, 58, 및 59의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 47, 48, 46, 57, 58, 및 59의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 47, 48, 68, 57, 58, 및 59의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 47, 48, 76, 57, 58, 및 59의 아미노산 서열을 포함한다.

[0279] 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 49, 50, 85, 60, 58, 및 56의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 49, 50, 51, 60, 58, 및 56의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 49, 50, 69, 60, 58, 및 56의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, HC CDR1, HC CDR2, HC CDR3, LC CDR1, LC CDR2, 및 LC CDR3은 각각 서열번호 49, 50, 77, 60, 58, 및 56의 아미노산 서열을 포함한다.

[0280] 일부 구현예에서, 인간 항-BCMA 결합 도메인은 VH(예컨대, 본원에 기술된 VH) 및 VL(예컨대, 본원에 기술된 VL)을 포함하는 scFv를 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 링커, 예컨대, 본원에 기술된 링커, 예컨대, 표 1에 기술된 링커를 통해 VL에 부착된다. 일부 구현예에서, 인간 항-BCMA 결합 도메인은 $(Gly_4\text{-}Ser)n$ 링커를 포함하며, n은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6, 바람직하게는 3 또는 4이다(서열번호 26). scFv의 경쇄 가변 영역 및 중쇄 가변 영역은 예컨대, 다음의 배향 중 임의의 배향일 수 있다: 경쇄 가변 영역-링커-중쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역-링커-경쇄 가변 영역.

[0281] 일 양태에서, 항-BCMA 결합 도메인은 단편, 예를 들어 단일 쇄 가변 단편(scFv)이다. 일 양태에서, 항-BCMA 결합 도메인은 Fv, Fab, (Fab')2, 또는 이중기능성(예를 들어 이중특이적) 하이브리드 항체이다(예를 들어 문헌[Lanzavecchia et al., Eur. J. Immunol. 17, 105 (1987)]). 일 양태에서, 본 발명의 항체 및 이의 단편은 BCMA 단백질에 야생형 또는 증진된 친화도로 결합한다.

[0282] 일부 예에서, scFv는 당해 분야에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다(예를 들어 문헌[Bird et al., (1988) Science 242:423-426] 및 문헌[Huston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883] 참조). scFv 분자는 가요성 폴리펩티드 링커를 사용하여 VH 및 VL 영역을 함께 연결함으로써 생성될 수 있다. scFv 분자는 최적화된 길이 및/또는 아미노산 조성을 갖는 링커(예를 들어 Ser-Gly 링커)를 포함한다. 링커 길이는 scFv의 가변 영역이 폴딩하고 상호작용하는 방식에 크게 영향을 미칠 수 있다. 실제로, 짧은 폴리펩티드 링커가 사용되는 경우(예를 들어 5 내지 10개의 아미노산), 쇄내 폴딩이 방지된다. 쇄간 폴딩은 또한 2개의 가변 영역을 함께 모아 기능적 에피토프 결합 부위를 형성하기 위해 필요하다. 링커 배향 및 크기의 예에 대해서는, 예를 들어 문헌[Hollinger et al. 1993 Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448], 미국 특허 출원 공개 제2005/0100543호, 제2005/0175606호, 제2007/0014794호 및 국제 공개 제2006/020258호 및 국제 공개 제2007/024715호를 참조하며, 이는 본원에 참고로 포함된다.

[0283] scFv는 이의 VL 영역과 VH 영역 사이에 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,

18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50개 이상의 아미노산 잔기의 링커를 포함할 수 있다. 링커 서열은 임의의 천연 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 서열은 아미노산 글리신 및 세린을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 링커 서열은 글리신 및 세린 반복체의 세트, 예컨대 $(Gly_4Ser)n$을 포함하며, 여기서 n은 1 이상의 양의 정수이다(서열번호 25). 일부 구현예에서, 링커는 $(Gly_4Ser)_4$(서열번호 27) 또는 $(Gly_4Ser)_3$(서열번호 28)일 수 있다. 링커 길이의 변이는 활성을 유지시키거나 증진시켜, 활성 연구에서 뛰어난 효능을 유도할 수 있다.

[0284] **막관통 도메인**

[0285] 막관통 도메인과 관련하여, 다양한 구현예에서, CAR은 CAR의 세포외 도메인에 부착된 막관통 도메인을 포함하도록 설계될 수 있다. 막관통 도메인은 막관통 영역에 인접한 하나 이상의 추가의 아미노산, 예를 들어 막관통 영역이 유래된 단백질의 세포외 영역과 관련된 하나 이상의 아미노산(예를 들어 세포외 영역의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 최대 15개의 아미노산) 및/또는 막관통 단백질이 유래된 단백질의 세포내 영역과 관련된 하나 이상의 추가의 아미노산(예를 들어 세포내 영역의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 최대 15개의 아미노산)을 포함할 수 있다. 일 양태에서, 막관통 도메인은 CAR의 다른 도메인 중 하나와 관련된 도메인이다. 일부 경우에, 막관통 도메인은 이러한 도메인이 동일한 또는 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 결합하는 것을 피하기 위해, 예를 들어 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호작용을 최소화하기 위해 선택되거나 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다. 일 양태에서, 막관통 도메인은 CAR 발현 세포, 예컨대, CART 세포, 표면 상의 또 다른 CAR과의 동종이량체화가 가능하다. 상이한 양태에서, 막관통 도메인의 아미노산 서열은 동일한 CAR 발현 세포, 예를 들어, CART에 존재하는 고유 결합 파트너의 결합 도메인과의 상호작용을 최소화하기 위해 변형되거나 치환될 수 있다.

[0286] 막관통 도메인은 천연 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 공급원이 천연인 경우에, 도메인은 임의의 막 결합 또는 막관통 단백질로부터 유래될 수 있다. 일 양태에서, 막관통 도메인은 CAR이 표적에 결합할 때마다 세포내 도메인(들)에의 신호전달이 가능하다. 본 발명에서 특히 유용한 막관통 도메인은 적어도 예를 들어 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8(예를 들어 CD8 알파, CD8 베타), CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154의 막관통 영역(들)을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 적어도 공동자극 분자, 예를 들어, MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린 유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1(CD11a/CD18), 4-1BB(CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS(CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 알파, CD8 베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CD100(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드의 막관통 영역(들)을 포함할 수 있다.

[0287] 일부 경우에, 막관통 도메인은 힌지, 예를 들어 인간 단백질로부터의 힌지를 통해 CAR의 세포외 영역, 예를 들어 CAR의 항원 결합 도메인에 부착될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 힌지는 인간 Ig(면역글로불린) 힌지, 예를 들어 IgG4 힌지, 또는 CD8a 힌지일 수 있다. 일부 구현예에서, 힌지 또는 스페이서는 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다(예를 들어, 이들로 구성된다). 일 양태에서, 막관통 도메인은 서열번호 6의 막관통 도메인을 포함한다(예를 들어, 이들로 구성된다).

[0288] 일 양태에서, 힌지 또는 스페이서는 IgG4 힌지를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 힌지 또는 스페이서는 서열번호 3의 아미노산 서열의 힌지를 포함한다. 일부 구현예에서, 힌지 또는 스페이서는 서열번호 14의 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 힌지를 포함한다.

[0289] 일 양태에서, 힌지 또는 스페이서는 IgD 힌지를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 힌지 또는 스페이서는 서열번호 4의 아미노산 서열의 힌지를 포함한다. 일부 구현예에서, 힌지 또는 스페이서는 서열번호 15의 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 힌지를 포함한다.

[0290] 일 양태에서, 막관통 도메인은 재조합 도메인일 수 있고, 이 경우에 이는 소수성 잔기, 예컨대 류신 및 발린을 주로 포함할 것이다. 일 양태에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체가 재조합 막관통 도메인의 각각의

말단에서 발견될 수 있다.

[0291] 선택적으로, 2 내지 10개 아미노산 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커는 CAR의 막관통 도메인과 세포질 영역 사이에 결합을 형성할 수 있다. 글리신-세린 이중체는 특히 적합한 링커를 제공한다. 예를 들어, 일 양태에서, 링커는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 서열번호 16의 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된다.

[0292] 일 양태에서, 힌지 또는 스페이서는 KIR2DS2 힌지를 포함한다.

[0293] **세포질 도메인**

[0294] 본 발명의 CAR의 세포질 도메인 또는 영역에는 세포내 신호전달 도메인이 포함된다. 일반적으로 세포내 신호전달 도메인은 CAR이 도입된 면역 세포의 정상적인 이펙터 기능 중 적어도 하나의 활성화를 담당한다.

[0295] 본 발명의 CAR에 사용하기 위한 세포내 신호전달 도메인의 예는 항원 수용체 결합 후에 신호 전달을 개시하기 위해 함께 작용하는 공동수용체 및 T 세포 수용체(TCR)의 세포질 서열과, 동일한 기능적 능력을 갖는 이들 서열의 임의의 유도체 또는 변이체 및 임의의 재조합 서열을 포함한다.

[0296] 단독의 TCR을 통해 생성된 신호는 T 세포의 완전한 활성화에는 불충분하고, 이차 및/또는 공동자극 신호가 또한 필요함이 공지되어 있다. 따라서, T 세포 활성화는 다음의 2개의 별개의 부류의 세포질 신호전달 서열에 의해 매개된다고 할 수 있다: TCR을 통해 항원-의존성 일차 활성화를 개시하는 것(일차 세포내 신호전달 도메인) 및 이차 또는 공동자극 신호를 제공하기 위해 항원-비의존성 방식으로 작용하는 것(이차 세포질 도메인, 예를 들어 공동자극 도메인)._

[0297] 일차 신호전달 도메인은 TCR 복합체의 일차 활성화를 자극적인 방식으로 또는 억제적인 방식으로 조절한다. 자극적인 방식으로 작용하는 일차 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 알려져 있는 신호전달 모티프를 함유할 수 있다.

[0298] 본 발명에서 특히 유용한 1차 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 ITAM의 예는 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278("ICOS"로도 알려짐), FcεRI, DAP10, DAP12, 및 CD66d의 것들을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR은 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3-제타의 일차 신호전달 도메인을 포함한다.

[0299] 일부 구현예에서, 일차 신호전달 도메인은 고유 ITAM 도메인과 비교하여 변경된(예를 들어 증가된 또는 감소된) 활성을 갖는 변형된 ITAM 도메인, 예를 들어 돌연변이된 ITAM 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 일차 신호전달 도메인은 변형된 ITAM-함유 일차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 최적화된 및/또는 절두된 ITAM-함유 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 일차 신호전달 도메인은 1, 2, 3 또는 4개 이상의 ITAM 모티프를 포함한다.

[0300] 본 발명에 특히 유용한 일차 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 분자의 추가의 예는 DAP10, DAP12 및 CD32의 것을 포함한다.

[0301] CAR의 세포내 신호전달 도메인은 일차 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3-제타 신호전달 도메인을 단독으로 포함할 수 있거나, 또는 본 발명의 CAR과 관련하여 유용한 임의의 다른 목적하는 세포내 신호전달 도메인(들)과 조합될 수 있다. 예를 들어 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 일차 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3 제타 쇄 부분 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 공동자극 신호전달 도메인은 공동자극 분자의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 부분을 나타낸다. 공동자극 분자는 항원에 대한 림프구의 효율적인 반응에 필요한 항원 수용체 또는 그의 리간드 이외의 세포 표면 분자이다. 이러한 분자의 예는 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린 유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1(CD11a/CD18), 4-1BB(CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS(CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 알파, CD8 베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CD100(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리

간드 등을 포함한다. 예를 들어 CD27 공동자극은 시험관 내에서 인간 CART 세포의 확장, 이펙터 기능, 및 생존을 증진시키고, 생체 내에서 인간 T 세포 지속성 및 항종양 활성을 증강시키는 것으로 입증된 바 있다(문헌 [Song et al. Blood. 2012; 119(3):696-706]). 본 발명의 CAR의 세포질 부분 내의 세포내 신호전달 도메인은 무작위 또는 특정 순서로 서로 연결될 수 있다. 선택적으로 예를 들어 2 내지 10개 아미노산(예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 아미노산) 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커는 세포내 신호전달 서열 사이에 결합을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 글리신-세린 이중체가 적합한 링커로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산, 예를 들어 알라닌, 글리신이 적합한 링커로서 사용될 수 있다.

[0302] 일 양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5개 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 일 구현예에서, 상기 2개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5개 이상의 공동자극 신호전달 도메인은 링커 분자, 예를 들어 본원에 기술된 링커 분자에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개의 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커 분자는 글리신 잔기이다. 일부 구현예에서, 링커는 알라닌 잔기이다.

[0303] 일 양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 CD28의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 일 양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 4-1BB의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 일 양태에서, 4-1BB의 신호전달 도메인은 서열번호 7의 신호전달 도메인이다. 일 양태에서, CD3-제타의 신호전달 도메인은 서열번호 9(돌연변이체 CD3 제타) 또는 서열번호 10(야생형 인간 CD3제타)의 신호전달 도메인이다.

[0304] 일 양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 CD27의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 일 양태에서, CD27의 신호전달 도메인은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함한다. 일 양태에서, CD27의 신호전달 도메인은 서열번호 19의 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0305] 일 양태에서, 세포내는 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 CD28의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 일 양태에서, CD28의 신호전달 도메인은 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함한다. 일 양태에서, CD28의 신호전달 도메인은 서열번호 37의 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0306] 일 양태에서, 세포내는 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 ICOS 의 신호전달 도메인을 포함하도록 설계된다. 일 양태에서, ICOS의 신호전달 도메인은 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함한다. 일 양태에서, ICOS의 신호전달 도메인은 서열번호 39의 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0307] **CAR 구성**

[0308] *다중특이적 CAR*

[0309] 일 구현예에서, 본 발명의 CAR은 다중특이적 CAR이다. 일부 구현예에서, 다중특이적 CAR은 이중특이적 CAR이다. 일부 구현예에서, 이중특이적 CAR은 이중특이적 항체 분자인 항원 결합 도메인을 포함한다. 이중특이적 항체는 2개 이하의 항원에 대해 특이성을 갖는다. 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대하여 결합 특이성을 갖는 제1 면역글로불린 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대하여 결합 특이성을 갖는 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다. 일 구현예에서, 제1 및 제2 에피토프는 동일한 항원, 예를 들어 동일한 단백질(또는 다량체 단백질의 서브유닛) 상에 존재한다. 일 구현예에서, 제1 및 제2 에피토프는 중첩된다. 일 구현예에서, 제1 및 제2 에피토프는 중첩되지 않는다. 일 구현예에서, 제1 및 제2 에피토프는 상이한 항원, 예를 들어 상이한 단백질(또는 다량체 단백질의 상이한 서브유닛) 상에 존재한다. 일 구현예에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 중쇄 가변 도메인 서열 및 경쇄 가변 도메인 서열 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 중쇄 가변 도메인 서열 및 경쇄 가변 도메인 서열을 포함한다. 일 구현예에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체를 포함한다. 일 구현예에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 또는 이의 단편, 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 절반 항체 또는 이의 단편을 포함한다. 일 구현예에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 scFv 또는 이의 단편, 및 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 scFv 또는 이의 단편을 포함한다.

[0310] 특정 구현예에서, 본 발명의 CAR은 다중특이적(예컨대, 이중특이적 또는 삼중특이적) 항체 분자인 항원 결합 도메인을 포함한다. 이중특이적 또는 이종이량체 항체 분자를 생성하기 위한 프로토콜은 당해 분야에 공지되어 있고; 이는 예를 들어 미국 특허 제5731168호에 기술된 "놉 인 홀(knob in a hole)" 접근법; 예를 들어 국제 공개 제09/089004호, 국제 공개 제06/106905호 및 국제 공개 제2010/129304호에 기술된 정전기적 스티어링 Fc

쌍형성; 예를 들어 국제 공개 제07/110205호에 기술된 바와 같은 가닥 교환 조작 도메인(SEED) 이종이량체 형성; 예를 들어 국제 공개 제08/119353호, 국제 공개 제2011/131746호, 및 국제 공개 제2013/060867호에 기술된 바와 같은 Fab 아암 교환; 예를 들어 미국 특허 제4433059호에 기술된 바와 같이, 예를 들어, 아민 반응기 및 술프히드릴 반응기를 갖는 헤테로이작용성 시약을 사용하여 이중특이적 구조를 생성하기 위한 항체 가교에 의한 이중 항체 접합체; 예를 들어 미국 특허 제4444878호에 기술된 바와 같은, 2개의 중쇄 사이의 디술피드 결합의 환원 및 산화의 사이클을 통한 상이한 항체들로부터의 절반 항체들(중쇄-경쇄 쌍 또는 Fab들)의 재조합에 의해 생성된 이중특이적 항체 결정기; 삼중기능성 항체, 예를 들어 술프히드릴 반응기를 통해 가교된 3개의 Fab' 단편(예를 들어 미국 특허 제5273743호에 기술된 바와 같음); 생합성 결합 단백질, 예를 들어 C-말단 테일을 통해, 바람직하게는 디술피드 또는 아민-반응성 화학적 가교을 통해 가교된 scFv의 쌍(예를 들어 미국 특허 제5534254호에 기술된 바와 같음); 이중기능성 항체, 예를 들어 불변 도메인을 대체한 류신 지퍼(예를 들어, c-fos 및 c-jun)를 통해 이량체화된, 상이한 결합 특이성을 갖는 Fab 단편(예를 들어 미국 특허 제5582996호에 기술된 바와 같음); 이중특이적 및 올리고특이성 1가- 및 올리고가 수용체, 예를 들어 한 항체의 CH1 영역과 전형적으로 경쇄와 회합된 다른 항체의 VH 영역 사이에 폴리펩티드 스페이서를 통해 연결된 2개의 항체(2개의 Fab 단편)의 VH-CH1 영역(예를 들어 미국 특허 제5591828호에 기술된 바와 같음); 이중특이적 DNA-항체 접합체, 예를 들어 DNA의 이중 가닥 조각을 통한 항체들 또는 Fab 단편들의 가교(예를 들어 미국 특허 제5635602호에 기술된 바와 같음); 이중특이적 융합 단백질, 예를 들어 2개의 scFv를, 이들과 전체 불변 영역 사이의 친수성 나선형 펩티드 링커와 함께 함유하는 발현 구축물(예를 들어 미국 특허 제5637481호에 기술된 바와 같음); 다가 및 다중특이적 결합 단백질, 예를 들어 일반적으로 디아바디로 불리는, Ig 중쇄 가변 영역의 결합 영역을 갖는 제1 도메인, 및 Ig 경쇄 가변 영역의 결합 영역을 갖는 제2 도메인을 갖는 폴리펩티드의 이량체(예를 들어 미국 특허 제5837242호에 기술된 바와 같은, 이중특이적, 삼중특이성 또는 사중특이성 분자를 생성하는 보다 고차원의 구조가 또한 포함됨); 예를 들어 미국 특허 제5837821호에 기술된 바와 같은, 연결된 VL 및 VH 쇄가 항체 힌지 영역 및 CH3 영역에 펩티드 스페이서에 의해 추가로 연결된(이는 이량체화되어 이중특이적/다가 분자를 형성할 수 있음), 미니바디 구축물; 이중특이적 디아바디를 형성하기 위한 이량체를 형성할 수 있는, 짧은 펩티드 링커(예를 들어, 5개 또는 10개 아미노산)를 사용하거나 또는 링커가 전혀 없이 어느 하나의 배향으로 연결된 VH 및 VL 도메인; 예를 들어 미국 특허 제5844094호에 기술된 바와 같은, 삼량체 및 사량체; 예를 들어 미국 특허 제5864019호에 기술된 바와 같은, 일련의 FV(또는 scFv)를 형성하기 위해 VL 도메인과 추가로 회합된, C-말단에서 가교 가능한 기와의 펩티드 연결에 의해 연결된 VH 도메인(또는 패밀리 구성원 내의 VL 도메인)의 스트링; 및 예를 들어 미국 특허 제5869620호에 기술된 바와 같은, scFv 또는 디아바디 유형 포맷 둘 다를 사용하여, 예를 들어 동종2가, 이종2가, 3가 및 4가 구조를 형성하기 위해 비-공유 또는 화학적 가교를 통해 다가 구조로 조합된, 펩티드 링커를 통해 연결된 VH 및 VL 도메인 둘 다를 갖는 단쇄 결합 폴리펩티드를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 추가의 예시적인 다중특이적 및 이중특이적 분자 및 그의 제조 방법은, 예를 들어 미국 특허 제5910573호, 미국 특허 제5932448호, 미국 특허 제5959083호, 미국 특허 제5989830호, 미국 특허 제6005079호, 미국 특허 제6239259호, 미국 특허 제6294353호, 미국 특허 제6333396호, 미국 특허 제6476198호, 미국 특허 제6511663호, 미국 특허 제6670453호, 미국 특허 제6743896호, 미국 특허 제6809185호, 미국 특허 제6833441호, 미국 특허 제7129330호, 미국 특허 제7183076호, 미국 특허 제7521056호, 미국 특허 제7527787호, 미국 특허 제7534866호, 미국 특허 제7612181호, 미국 특허 공개 제2002004587A1호, 미국 특허 공개 제2002076406A1호, 미국 특허 공개 제2002103345A1호, 미국 특허 공개 제2003207346A1, 미국 특허 공개 제2003211078A1호, 미국 특허 공개 제2004219643A1호, 미국 특허 공개 제2004220388A1호, 미국 특허 공개 제2004242847A1호, 미국 특허 공개 제2005003403A1호, 미국 특허 공개 제2005004352A1호, 미국 특허 공개 제2005069552A1호, 미국 특허 공개 제2005079170A1호, 미국 특허 공개 제2005100543A1호, 미국 특허 공개 제2005136049A1호, 미국 특허 공개 제2005136051A1호, 미국 특허 공개 제2005163782A1호, 미국 특허 공개 제2005266425A1호, 미국 특허 공개 제2006083747A1호, 미국 특허 공개 제2006120960A1호, 미국 특허 공개 제2006204493A1호, 미국 특허 공개 제2006263367A1호, 미국 특허 공개 제2007004909A1호, 미국 특허 공개 제2007087381A1호, 미국 특허 공개 제2007128150A1호, 미국 특허 공개 제2007141049A1호, 미국 특허 공개 제2007154901A1호, 미국 특허 공개 제2007274985A1호, 미국 특허 공개 제2008050370A1호, 미국 특허 공개 제2008069820A1호, 미국 특허 공개 제2008152645A1호, 미국 특허 공개 제2008171855A1호, 미국 특허 공개 제2008241884A1호, 미국 특허 공개 제2008254512A1호, 미국 특허 공개 제2008260738A1호, 미국 특허 공개 제2009130106A1호, 미국 특허 공개 제2009148905A1호, 미국 특허 공개 제2009155275A1호, 미국 특허 공개 제2009162359A1호, 미국 특허 공개 제2009162360A1호, 미국 특허 공개 제2009175851A1호, 미국 특허 공개 제2009175867A1호, 미국 특허 공개 제2009232811A1호, 미국 특허 공개 제2009234105A1호, 미국 특허 공개 제2009263392A1호, 미국 특허 공개 제2009274649A1호, 유럽 특허 제346087A2호, 국제 공개 제0006605A2호, 국제

공개 제02072635A2호, 국제 공개 제04081051A1호, 국제 공개 제06020258A2호, 국제 공개 제2007044887A2호, 국제 공개 제2007095338A2호, 국제 공개 제2007137760A2호, 국제 공개 제2008119353A1호, 국제 공개 제2009021754A2호, 국제 공개 제2009068630A1호, 국제 공개 제9103493A1호, 국제 공개 제9323537A1호, 국제 공개 제9409131A1호, 국제 공개 제9412625A2호, 국제 공개 제9509917A1호, 국제 공개 제9637621A2호, 국제 공개 제9964460A1호에서 발견된다. 위에 언급된 출원의 내용은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0311] 이중특이적 항체 분자의 각각의 항체 또는 항체 단편(예를 들어, scFv) 내에서, VH는 VL의 상류 또는 하류에 있을 수 있다. 일부 구현예에서, 상류 항체 또는 항체 단편(예를 들어, scFv)은 그의 VH(VH_1)가 그의 VL(VL_1)의 상류에 있게 배열되고, 하류 항체 또는 항체 단편(예를 들어, scFv)은 그의 VL(VL_2)이 그의 VH(VH_2)의 상류에 있게 배열되어, 전체 이중특이적 항체 분자가 배열 VH_1-VL_1-VL_2-VH_2를 갖도록 한다. 다른 구현예에서, 상류 항체 또는 항체 단편(예를 들어, scFv)은 그의 VL(VL_1)이 그의 VH(VH_1)의 상류에 있게 배열되고, 하류 항체 또는 항체 단편(예를 들어, scFv)은 그의 VH(VH_2)가 그의 VL(VL_2)의 상류에 있게 배열되어, 전체 이중특이적 항체 분자가 배열 VL_1-VH_1-VH_2-VL_2를 갖도록 한다. 선택적으로, 링커는 상기 2개의 항체 또는 항체 단편(예를 들어, scFv) 사이, 예를 들어 구축물이 VH_1-VL_1-VL_2-VH_2로 배열된 경우에 VL_1과 VL_2 사이, 또는 구축물이 VL_1-VH_1-VH_2-VL_2로 배열된 경우에 VH_1과 VH_2 사이에 배치된다. 링커는 본원에 기술된 바와 같은 링커, 예를 들어 $(Gly_4$-Ser)n 링커일 수 있으며, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 바람직하게는 4이다(서열번호 26). 일반적으로, 상기 2개의 scFv 사이의 링커는 2개의 scFv의 도메인 사이의 쌍형성오류를 피하기에 충분히 길어야 한다. 선택적으로, 링커는 제1 scFv의 VL과 VH 사이에 배치된다. 선택적으로 링커는 제2 scFv의 VL과 VH 사이에 배치된다. 다수의 링커를 갖는 구축물에서, 링커 중 임의의 2개 이상은 동일하거나 상이할 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 이중특이적 CAR은 VL, VH, 및 선택적으로 1개 이상의 링커를 본원에 기술된 바와 같은 배열로 포함한다.

[0312] 일 양태에서, 이중특이적 항체 분자는 제1 면역글로불린 가변 도메인 서열, 예를 들어, BCMA에 대한 결합 특이성을 갖는 scFv, 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은, 예를 들어, 표 2, 6, 및 10에 기술된 바와 같은 scFv를 포함하거나 본원에 기술된 BCMA scFv로부터의 경쇄 CDR 및/또는 중쇄 CDR을 포함하는 제1 면역글로불린 가변 도메인 서열, 및 상이한 항원 상의 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다. 일부 양태에서 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 AML 세포에서 발현되는 항원, 예컨대, BCMA 이외의 항원에 대한 결합 특이성을 갖는다. 예를 들어, 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 CD123에 대한 결합 특이성을 갖는다. 또 다른 예로서, 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 CLL-1에 대한 결합 특이성을 갖는다. 또 다른 예로서, 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 CD34에 대한 결합 특이성을 갖는다. 또 다른 예로서, 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 FLT3에 대한 결합 특이성을 갖는다. 예를 들어, 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 폴레이트 수용체 베타에 대한 결합 특이성을 갖는다. 일부 양태에서, 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 B 세포에서 발현되는 항원, 예를 들어, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, FLT-3, ROR1, CD79b, CD179b, 또는 CD79a에 대한 결합 특이성을 갖는다.

[0313] *키메라 TCR*

[0314] 일 양태에서, 본 발명의 항-BCMA 항체 및 항체 단편(예를 들어 표 2, 6, 및 10에 개시된 것들)은 T 세포 수용체("TCR") 쇄, 예를 들어 TCR 알파 또는 TCR 베타 쇄의 1개 이상의 불변 도메인에 그라프트되어 BCMA에 특이적으로 결합하는 키메라 TCR을 생성할 수 있다. 이론에 구애됨 없이, 키메라 TCR은 항원 결합 시 TCR 복합체를 통해 신호를 전달할 것으로 여겨진다. 예를 들어, 본원에 개시된 바와 같은 BCMA scFv는 TCR 쇄, 예를 들어 TCR 알파 쇄 및/또는 TCR 베타 쇄의 불변 도메인, 예를 들어 세포외 불변 도메인의 적어도 일부, 막관통 도메인 및 세포질 도메인에 그라프트될 수 있다. 또 다른 예로서, 항체 단편, 예를 들어 본 명세서에서 기술된 바와 같은 VL 도메인은 TCR 알파 쇄의 불변 도메인에 그라프트될 수 있고, BCMA 항체 단편, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 VH 도메인은 TCR 베타 쇄의 불변 도메인에 그라프트될 수 있다(또는 대안적으로, VL 도메인은 TCR 베타 쇄의 불변 도메인에 그라프트될 수 있고, VH 도메인은 TCR 알파 쇄에 그라프트될 수 있다). 또 다른 예로서, 항-BCMA 항체 또는 항체 단편의 CDR, 예를 들어 표 2 내지 13에 기술된 바와 같은 항-BCMA 항체 또는 항체 단편의 CDR은 TCR 알파 및/또는 베타 쇄에 그라프트되어 BCMA에 특이적으로 결합하는 키메라 TCR을 생성할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에서 개시된 LCDR은 TCR 알파 쇄의 가변 도메인에 그라프트될 수 있고, 본 명세서에서 개시된 HCDR은 TCR 베타 쇄의 가변 도메인에 그라프트될 수 있거나, 또는 그 반대도 가능하다. 이러한 키메라 TCR은 당해 분야에 공지된 방법에 의해 생성될 수 있다(예를 들어, 문헌[Willemsen RA et al, Gene Therapy 2000; 7: 1369-1377]; 문헌[Zhang T et al, Cancer Gene Ther 2004; 11: 487-496]; 문헌[Aggen et al, Gene Ther. 2012

Apr;19(4):365-74]).

[0315] *추가 구현예*

[0316] 일 양태에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 제2 CAR, 예를 들어 동일한 표적(BCMA) 또는 상이한 표적(예를 들어, CD19, CD20, 또는 CS-1, 또는 다른 다발 골수종 표적, 예컨대, 카파 경쇄, CD138, 루이스 Y 항원, 또는 CD38)에 대한 상이한 항원 결합 도메인을 포함하는 제2 CAR을 추가로 포함할 수 있다(문헌[Garfall et al., Discovery Medicine, 2014, 17(91):37-46]). 일부 구현예에서, CAR 발현 세포는 제1 항원을 표적화하고 공동자극 신호전달 도메인을 갖지만 일차 신호전달 도메인을 갖지 않는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 CAR, 및 제2의 상이한 항원을 표적화하고 일차 신호전달 도메인을 갖지만 공동자극 신호전달 도메인을 갖지 않는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 포함한다. 이론에 구애되고자 함이 없이, 공동자극 신호전달 도메인, 예를 들어 4-1BB, CD28, CD27 ICOS, 또는 OX-40을 제1 CAR에, 및 일차 신호전달 도메인, 예를 들어 CD3 제타를 제2 CAR에 배치하면, CAR 활성을 둘 다의 표적이 발현되는 세포로 제한할 수 있다. 일부 구현예에서, CAR 발현 세포는 BCMA 결합 도메인, 막관통 도메인 및 공동자극 도메인을 포함하는 제1 BCMA CAR 및 BCMA 이외의 항원(예를 들어 백혈병 또는 림프종 세포 상에서 발현되는 항원, 예를 들어 CD19, CD20, CS-1, 카파 경쇄, CD139, 루이스 Y 항원, 또는 CD38)을 표적화하고 항원 결합 도메인, 막관통 도메인 및 일차 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 포함한다. 또 다른 구현예에서, CAR 발현 세포는 BCMA 결합 도메인, 막관통 도메인 및 일차 신호전달 도메인을 포함하는 제1 BCMA CAR, 및 BCMA 이외의 항원(예를 들어 백혈병 또는 림프종 세포 상에서 발현되는 항원, 예를 들어 CD19, CD20, CS-1, 카파 경쇄, CD139, 루이스 Y 항원, 또는 CD38)을 표적화하고 항원에 대한 항원 결합 도메인, 막관통 도메인 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 포함한다. 일부 구현예에서, CAR 발현 세포는 본원에 기술된 BCMA CAR 및 CD19를 표적화하는 CAR(CD19 CAR)을 포함한다.

[0317] 일부 구현예에서, CAR 발현 세포는 본원에 기술된 BCMA CAR 및 억제성 CAR을 포함한다. 일부 구현예에서, 억제성 CAR은 암 세포에서는 발견되지 않지만 정상 세포에서는 발견되는 항원과 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 억제성 CAR은 억제성 분자의 세포내 도메인, 막관통 도메인 및 항원 결합 도메인을 포함한다. 예를 들어, 억제성 CAR의 세포내 도메인은 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3, 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGF 베타의 세포내 도메인일 수 있다.

[0318] 일부 구현예에서, CAR 발현 세포가 2개 이상의 상이한 CAR을 포함하는 경우에, 상이한 CAR의 항원 결합 도메인은 항원 결합 도메인이 서로 상호작용하지 않도록 하는 것일 수 있다. 예를 들어, 제1 및 제2 CAR을 발현하는 세포는 제2 CAR의 항원 결합 도메인(예를 들어 제2 CAR의 항원 결합 도메인은 VHH임)과 회합을 형성하지 않는 제1 CAR의 항원 결합 도메인을, 예를 들어 단편(예를 들어, scFv)으로서, 가질 수 있다.

[0319] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 그의 상보성 결정 영역이 단일 도메인 폴리펩티드의 일부인 분자를 포함하는 단일 도메인 항원 결합(SDAB) 분자를 포함한다. 예는 중쇄 가변 도메인, 천연적으로 경쇄가 결여된 결합 분자, 통상적인 4-쇄 항체로부터 유래된 단일 도메인, 조작된 도메인 및 항체로부터 유래된 것 이외의 단일 도메인 스캐폴드를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. SDAB 분자는 당해 분야의 것, 또는 임의의 장래의 단일 도메인 분자 중 임의의 것일 수 있다. SDAB 분자는 마우스, 인간, 낙타, 라마, 칠성장어, 어류, 상어, 염소, 토끼 및 소를 포함하지만 이에 한정되지는 않는 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 이 용어는 또한 낙타과 및 상어 이외의 종으로부터의 자연 발생 단일 도메인 항체 분자를 포함한다.

[0320] 일 양태에서, SDAB 분자는 어류에서 관찰되는 면역글로불린, 예컨대, 예를 들어 상어의 혈청에서 발견되는 신규 항원 수용체(NAR)로서 공지된 면역글로불린 이소형으로부터 유래된 것의 가변 영역으로부터 유래될 수 있다. NAR("IgNAR")의 가변 영역으로부터 유래된 단일 도메인 분자를 생성하는 방법은 국제 공개 제2003/014161호 및 문헌[Streltsov (2005) Protein Sci. 14:2901-2909]에 기술되어 있다.

[0321] 또 다른 양태에 따르면, SDAB 분자는 경쇄가 없는 중쇄로서 알려진 자연 발생적인 단일 도메인 항원 결합 분자이다. 이러한 단일 도메인 분자는 예를 들어 국제 공개 제9404678호 및 문헌[Hamers-Casterman, C. et al. (1993) Nature 363:446-448]에 개시되어 있다. 명확성을 위해, 자연적으로 경쇄가 결여된 중쇄 분자로부터 유래된 이러한 가변 도메인은 4쇄 면역글로불린의 통상적인 VH와 구별하기 위하여 본 명세서에서 VHH 또는 나노바디로 공지된다. 이러한 VHH 분자는 낙타과 종으로부터, 예를 들어 낙타, 라마, 단봉낙타, 알파카 및 과나코에서 유래될 수 있다. 낙타과 이외의 다른 종이 자연적으로 경쇄가 결여된 중쇄 분자를 생성할 수 있고, 이러한 VHH는 본 발명의 범위 내에 있다.

[0322] SDAB 분자는 재조합, CDR-그라프트, 인간화, 낙타화, 탈면역화 및/또는 시험관 내 생성(예를 들어 파지 디스플레이에 의해 선택)될 수 있다.

[0323] 수용체의 항원 결합 도메인 사이에서 상호작용하는 항원 결합 도메인을 포함하는 복수의 키메라 막 포매 수용체를 갖는 세포는, 예를 들어 항원 결합 도메인 중 하나 이상이 그 동족 항원에 결합하는 능력을 억제하기 때문에 바람직하지 않을 수 있음이 또한 발견되었다. 따라서, 이러한 상호작용을 최소화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 및 제2 비 자연 발생 키메라 막 임베딩 수용체를 갖는 세포가 본원에 개시된다. 또한, 이러한 상호작용을 최소화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 및 제2 비 자연 발생 키메라 막 임베딩 수용체를 암호화하는 핵산, 그리고 이러한 세포 및 핵산의 제조 및 사용 방법이 본원에 개시된다. 일 구현예에서, 상기 제1 및 상기 제2 비-자연 발생 키메라 막 임베딩 수용체 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 하나는 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타과, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다.

[0324] 일부 구현예에서, 청구된 발명은 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR을 포함하며, 여기서 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 가변 경쇄 도메인 및 가변 중쇄 도메인을 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv이고, 다른 하나는 scFv가 아니다. 일부 구현예에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타과, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 나노바디를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 낙타과 VHH 도메인을 포함한다.

[0325] 일부 구현예에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 하나는 단일 VH 도메인, 예를 들어 낙타과, 상어 또는 칠성장어 단일 VH 도메인, 또는 인간 또는 마우스 서열로부터 유래된 단일 VH 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 하나는 나노바디를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR 중 하나의 항원 결합 도메인은 scFv를 포함하고, 다른 하나는 낙타과 VHH 도메인을 포함한다.

[0326] 일부 구현예에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우, 상기 제1 CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에의 결합은 상기 제2 CAR의 존재에 의해서는 실질적으로 감소되지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 제2 CAR의 존재 하의 상기 제1 CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에의 결합은 상기 제2 CAR의 부재 하의 상기 제1 CAR의 항원 결합 도메인의 그의 동족 항원에의 결합의 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%이다.

[0327] 일부 구현예에서, 세포의 표면 상에 존재하는 경우, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR의 항원 결합 도메인은 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 서로 덜 회합한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 CAR 및 상기 제2 CAR의 항원 결합 도메인은 둘 다가 scFv 항원 결합 도메인인 경우보다 서로 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 더 적게 회합한다.

[0328] 또 다른 양태에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 또 다른 작용제, 예를 들어 CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제를 추가로 발현할 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 작용제는 억제성 분자를 억제하는 작용제, 예컨대, 본원에 기술된 작용제일 수 있다. 억제성 분자, 예를 들어 PD1은 일부 구현예에서 면역 이펙터 반응을 일으키는 CAR 발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있다. 억제성 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 일부 구현예에서, 억제성 분자를 억제하는 작용제는 세포에 양성 신호를 제공하는 제2 폴리펩티드, 예를 들어 본원에 기술된 세포내 신호전달 도메인과 회합된, 제1 폴리펩티드, 예를 들어 억제성 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 작용제는, 예를 들어 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타, 또는 이들 중 어느 하나의 단편(예를 들어, 이들 중 어느 하나의 세포 외 도메인의 적어도 일부)과 같은 억제성 분자의 제1 폴리펩티드, 및 (예를 들어, 공동자극 도메인(예를 들어, 본원에 기술된 것과 같은 41BB, CD27 ICOS, 또는 CD28 등) 및/또는 일차 신호전달 도메인(예를 들어, 본원에 기술된 CD3 제타 신호전달 도메인)을 포함하는) 본원에 기술된 세포내 신호전달 도메인인 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 작용제는 PD1 또는 그의 단편(예를 들어 PD1의 세포외 도메인의 적어도 일부)의 제1 폴리펩티드, 및 본원에 기술된 세포내 신호전달 도메인(예를 들어 본원에 기술된 CD28 신호전달 도메인 및/또는 본원에

기술된 CD3 제타 신호전달 도메인)의 제2 폴리펩티드를 포함한다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 예를 들어, 그 전문이 본원에 참조로서 포함되는 국제 공개 제2013/019615호에 기술된, 스위치 공동자극 수용체를 포함한다. PD1은 CD28, CTLA-4, ICOS, 및 BTLA를 또한 포함하는 CD28 패밀리의 수용체의 억제성 구성원이다. PD-1은 활성화된 B 세포, T 세포 및 골수 세포에서 발현된다(문헌[Agata et al. 1996 Int. Immunol 8:765-75]). PD1에 대한 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2는 PD1에 대한 결합 시에 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 나타났다(문헌[Freeman et al. 2000 J Exp Med 192:1027-34]; 문헌[Latchman et al. 2001 Nat Immunol 2:261-8]; 문헌[Carter et al. 2002 Eur J Immunol 32:634-43]). PD-L1은 인간 암에서 풍부하다(문헌[Dong et al. 2003 J Mol Med 81:281-7]; 문헌[Blank et al. 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314]; 문헌[Konishi et al. 2004 Clin Cancer Res 10:5094]). 면역 억제는 PD1과 PD-L1의 국소적 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있다.

[0329] 일부 구현예에서, 억제성 분자, 예를 들어 PD1(Programmed Death 1)의 세포외 도메인(ECD)을 포함하는 작용제는 막관통 도메인 및 세포내 신호전달 도메인, 예컨대 41BB 및 CD3 제타에 융합될 수 있다(본원에서 PD1 CAR로도 지칭됨). 일부 구현예에서, PD1 CAR은 본원에 기술된 BCMA CAR과 조합하여 사용되는 경우 CAR 발현 세포, 예를 들어, T 세포 또는 NK 세포의 지속성을 개선한다. 일부 구현예에서, CAR은 서열번호 24에 밑줄로 표시한 PD1의 세포외 도메인을 포함하는 PD1 CAR이다. 일부 구현예에서, PD1 CAR은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함한다.

[0330] 일부 구현예에서, PD1 CAR은 아래에 제공된 아미노산 서열(서열번호 22)을 포함한다.

[0331] 일부 구현예에서, 작용제는 PD1 CAR, 예를 들어, 본원에 기술된 PD1 CAR을 암호화하는 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, PD1 CAR에 대한 핵산 서열은 서열번호 23으로서 제공되며, PD1 ECD는 밑줄 표시되어 있다.

[0332] 또 다른 양태에서, 본 발명은 CAR 발현 세포, 예를 들어 CART 세포 또는 CAR 발현 NK 세포의 집단을 제공한다. 일부 구현예에서, CAR 발현 세포의 집단은 상이한 CAR을 발현하는 세포의 혼합물을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, CAR 발현 세포(예를 들어, CART 세포 또는 CAR 발현 NK 세포)의 집단은 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인을 갖는 CAR을 발현하는 제1 세포, 및 상이한 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 제1 세포에 의해 발현되는 CAR 내의 항-BCMA 결합 도메인과 상이한 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인을 갖는 CAR을 발현하는 제2 세포를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, CAR 발현 세포의 집단은 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 항-BCMA 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제1 세포 및 BCMA 이외의 표적(예를 들어 CD19, CD20, CS-1, 카파 경쇄, CD139, 루이스 Y 항원, 또는 CD38)에 대한 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제2 세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, CAR 발현 세포의 집단은 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 항-BCMA 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제1 세포 및 CD19을 표적화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR(CD19 CAR)을 발현하는 제2 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, CAR 발현 세포의 집단은 예를 들어 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제1 세포 및 이차 신호전달 도메인을 포함하는 CAR을 발현하는 제2 세포를 포함한다.

[0333] 또 다른 양태에서, 본 발명은 세포의 집단을 제공하며, 집단 내의 적어도 하나의 세포는 본원에 기술된 항-BCMA 도메인을 갖는 CAR을 발현하며, 제2 세포는 또 다른 작용제, 예를 들어 CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제를 발현한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 작용제는 억제성 분자를 억제하는 작용제일 수 있다. 억제성 분자는 예를 들어 일부 구현예에서, 면역 이펙터 반응을 증가시키는 CAR 발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있다. 억제성 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 일부 구현예에서, 억제성 분자를 억제하는 작용제는 세포에 양성 신호를 제공하는 제2 폴리펩티드, 예를 들어 본원에 기술된 세포내 신호전달 도메인과 회합된, 제1 폴리펩티드, 예를 들어 억제성 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, 작용제는, 예를 들어 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타, 또는 이들 중 어느 하나의 단편(예를 들어, 이들 중 어느 하나의 세포 외 도메인의 적어도 일부)과 같은 억제성 분자의 제1 폴리펩티드, 및 (예를 들어, 공동자극 도메인(예를 들어, 본원에 기술된 것과 같은 41BB, CD27, ICOS, 또는 CD28 등) 및/또는 일차 신호전달 도메인(예를 들어, 본원에 기술된 CD3 제타 신호전달 도메인)을 포함하는) 본원에 기술된 세포내 신호전달 도메인인 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 작용제는 PD1 또는 그의 단편(예를 들어 PD1의 세포외 도메인의 적어도 일부)의 제1 폴리펩티드, 및 본원에 기술된 세포내 신호전달 도메인(예를 들어 본원에 기술된 CD28 신호전달 도메인 및/또는 본원에 기술된 CD3 제타 신호전달 도메인)의 제2 폴리펩티드를 포

함한다.

[0334] 일 양태에서, 본 발명은 또 다른 작용제, 예를 들어 키나제 억제제, 예컨대 본원에 기술된 키나제 억제제와 조합하여 CAR 발현 세포(예를 들어, CART 세포 또는 CAR 발현 NK 세포)의 집단, 예를 들어 상이한 CAR을 발현하는 세포의 혼합물을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 또 다른 작용제, 예를 들어 키나제 억제제, 예컨대 본원에 기술된 키나제 억제제와 조합하여 세포의 집단을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공하며, 집단 내의 적어도 하나의 세포는 본원에 기술된 바와 같은 항암 관련 항원 결합 도메인을 갖는 CAR을 발현하며, 제2 세포는 또 다른 작용제, 예를 들어 CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제를 발현한다.

[0335] *자연 살해 세포 수용체(NKR) CAR*

[0336] 일 구현예에서, 본 명세서에서 기술된 CAR 분자는 자연 살해 세포 수용체(NKR)의 하나 이상의 성분을 포함하며, 그에 의해 NKR-CAR을 형성한다. NKR 성분은 다음의 자연 살해 세포 수용체 중 임의의 것으로부터의 막관통 도메인, 힌지 도메인, 또는 세포질 도메인일 수 있다: 살해 세포 면역글로불린 유사 수용체(KIR), 예를 들어 KIR2DL1, KIR2DL2/L3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, DIR2DS5, KIR3DL1/S1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR2DP1, 및 KIR3DP1; 자연 세포독성 수용체(NCR), 예를 들어 NKp30, NKp44, NKp46; 면역 세포 수용체의 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM) 패밀리, 예를 들어 CD48, CD229, 2B4, CD84, NTB-A, CRACC, BLAME, 및 CD2F-10; Fc 수용체(FcR), 예를 들어 CD16, 및 CD64; Ly49 수용체, 예를 들어 LY49A, LY49C. 본원에 기술된 NKR-CAR 분자는 어댑터 분자 또는 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 DAP12와 상호작용할 수 있다. NKR 성분을 포함하는 CAR 분자의 예시적인 구성 및 서열은 국제 공개 제2014/145252호에 기술되어 있고, 그 내용은 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0337] *키메라 항원 수용체 조절 전략*

[0338] CAR 활성을 조절할 수 있는 많은 방식이 존재한다. 일부 구현예에서, CAR 활성이 제어될 수 있는 조절 가능한 CAR(RCAR)은 CAR 요법의 안전성 및 효능을 최적화하는 데 바람직하다. 예를 들어, 이량체화 도메인에 융합된 카스파제를 사용한 유도 아폽토시스(예를 들어 문헌[Di Stasa et al., N Egnl. J. Med. 2011 Nov. 3; 365(18):1673-1683] 참조)는 본 발명의 CAR 요법에서 안전성 스위치로서 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, CAR 발현 세포는 또한 이량체화제(예를 들어 리미두시드(AP1903(Bellicum Pharmaceuticals) 또는 AP20187(Ariad)이라고도 함)의 투여 시 카스파제-9의 활성화 및 세포의 아폽토시스를 유도하는 유도성 카스파제-9(iCaspase-9) 분자를 발현할 수 있다. iCaspase-9 분자는 이량체화 화학 유도제(CID)의 존재 하에 이량체화를 매개하는 CID 결합 도메인을 포함한다. 이는 CAR 발현 세포의 유도성 및 선택적 고갈을 초래한다. 일부 경우에, iCaspase-9 분자는 CAR 암호화 벡터(들)와 별개인 핵산 분자에 의해 암호화된다. 일부 경우에, iCaspase-9 분자는 CAR 암호화 벡터와 동일한 핵산 분자에 의해 암호화된다. iCaspase-9는 CAR 발현 세포의 임의의 독성을 피할 안전성 스위치를 제공할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Song et al. Cancer Gene Ther. 2008; 15(10):667-75]; 문헌[Clinical Trial Id. No. NCT02107963]; 및 문헌[Di Stasi et al. N. Engl. J. Med. 2011; 365:1673-83] 참조.

[0339] 본 발명의 CAR 요법을 조절하기 위한 대안적 전략은, 예를 들어 CAR 발현 세포를 고갈시킴으로써, 예를 들어 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)을 유도함으로써 CAR 활성을 비활성화하거나 턴오프하는 작은 분자 또는 항체를 이용하는 것을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 세포 사멸, 예를 들어 ADCC 또는 보체 유도 세포 사멸을 유도할 수 있는 분자에 의해 인식되는 항원을 또한 발현할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 항체 또는 항체 단편에 의해 표적화될 수 있는 수용체를 또한 발현할 수 있다. 이러한 수용체의 예는 EpCAM, VEGFR, 인테그린(예를 들어, 인테그린 αvβ3, α4, αI¾β3, α4β7, α5β1, αvβ3, αv), TNF 수용체 수퍼패밀리의 구성원(예를 들어, TRAIL-R1, TRAIL-R2), PDGF 수용체, 인터페론 수용체, 엽산 수용체, GPNMB, ICAM-1, HLA-DR, CEA, CA-125, MUC1, TAG-72, IL-6 수용체, 5T4, GD2, GD3, CD2, CD3, CD4, CD5, CD1 1, CD1 1 a/LFA-1, CD15, CD18/ITGB2, CD19, CD20, CD22, CD23/lgE 수용체, CD25, CD28, CD30, CD33, CD38, CD40, CD41, CD44, CD51, CD52, CD62L, CD74, CD80, CD125, CD147/바시진(basigin), CD152/CTLA-4, CD154/CD40L, CD195/CCR5, CD319/SLAMF7, 및 EGFR, 및 이의 절두된 버전(예를 들어, 하나 이상의 세포외 에피토프를 보존하지만 세포질 도메인 내에 하나 이상의 영역이 결여된 버전)을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는, 신호전달 능력은 없지만 ADCC를 유도할 수 있는 분자에 의해 인식되는 에피토프를 보유한 절두된 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 예를 들어 세툭시맙(ERBITUX®)을, 세툭시맙의 투여가 ADCC 및 이후의 CAR 발현 세포의 고갈을 유도하도록, 또한 발현할 수 있다(예를 들어, 국제 공개 제2011/056894호, 및 문헌

[Jonnalagadda et al., Gene Ther. 2013; 20(8)853-860] 참조). 또 다른 전략은 리툭시맙에 결합하는, 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 CD32 및 CD20 항원 모두로부터의 표적 에피토프를 조합하는 매우 컴팩트한 마커/자살 유전자를 발현하여, 예를 들어 ADCC에 의해 CAR 발현 세포의 선택적 고갈을 초래하는 것을 포함한다(예를 들어, 문헌[Philip et al., Blood. 2014; 124(8)1277-1287] 참조). 본원에 기술된 CAR 발현 세포를 고갈시키는 다른 방법은, 예를 들어 ADCC를 유도함으로써, 파괴를 위한, 성숙한 림프구, 예를 들어 CAR 발현 세포에 선택적으로 결합하고 이를 표적으로 하는 단클론 항-CD52 항체, CAMPATH®의 투여를 포함한다. 다른 구현예에서, CAR 발현 세포는 CAR 리간드, 예를 들어 항유전자형 항체를 사용해 선택적으로 표적화될 수 있다. 일부 구현예에서, 항유전자형 항체는 이펙터 세포 활성, 예를 들어 ADCC 또는 ADC 활성을 야기함으로써 CAR 발현 세포의 수를 감소시킬 수 있다. 다른 구현예에서, CAR 리간드, 예를 들어 항유전자형 항체는 세포 사멸을 유도하는 작용제(예를 들어, 독소)에 커플링됨으로써 CAR 발현 세포의 수를 감소시킬 수 있다. 대안적으로, CAR 분자 자체는 활성이 후술하는 바와 같이 조절될 수 있도록, 예를 들어 턴온 및 턴오프될 수 있도록 구성될 수 있다.

[0340] 일부 구현예에서, RCAR은 가장 단순한 구현예에서 전형적으로 2개인 폴리펩티드의 세트를 포함하며, 여기서 본원에 기술된 표준 CAR의 성분, 예를 들어 항원 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인은 개별 폴리펩티드 또는 구성원 상에 분배되어 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드의 세트는 이량체화 분자의 존재 시 폴리펩티드를 서로 커플링시킬 수 있는, 예를 들어 항원 결합 도메인을 세포내 신호전달 도메인에 커플링시킬 수 있는 이량체화 스위치를 포함한다. 이러한 조절 가능한 CAR에 대한 추가 설명 및 예시적인 구성은 본원 및 전체가 참조로서 본원에 포함되는 국제 공개 제2015/090229호에 제공되어 있다.

[0341] 일 구현예에서, RCAR은 다음의 2가지의 폴리펩티드 또는 구성원을 포함한다: 1) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 본원에 기술된 일차 세포내 신호전달 도메인, 및 제1 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 구성원; 2) 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은, 본원에 기술된 종양 항원을 표적화하는 항원 결합 도메인, 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원. 선택적으로 RCAR은 본원에 기술된 막관통 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 막관통 도메인은 세포내 신호전달 구성원에, 항원 결합 구성원에, 또는 둘 다에 배치될 수 있다. (달리 나타내지 않는 한, RCAR의 구성원 또는 요소가 본원에 기술된 경우에, 순서는 제공된 바와 같을 수 있지만, 다른 순서가 또한 포함된다. 다시 말해서, 일 구현예에서 순서는 텍스트에 제시된 바와 같지만, 다른 구현예에서 순서는 상이할 수 있다. 예를 들어 막관통 영역의 한 면 상의 요소의 순서는 실시예와 상이할 수 있고, 예를 들어 세포내 신호전달 도메인에 대한 스위치 도메인의 배치는 상이할 수 있고, 예를 들어 역전될 수 있다).

[0342] 일 구현예에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 세포내 또는 세포외 이량체화 스위치를 형성할 수 있다. 일 구현예에서, 이량체화 스위치는 예를 들어 제1 및 제2 스위치 도메인이 동일한 동종이량체화 스위치, 또는 예를 들어 제1 및 제2 스위치 도메인이 서로 상이한 이종이량체화 스위치일 수 있다.

[0343] 구현예에서, RCAR은 "다중 스위치"를 포함할 수 있다. 다중 스위치는 이종이량체화 스위치 도메인 또는 동종이량체화 스위치 도메인을 포함할 수 있다. 다중 스위치는 제1 구성원, 예를 들어 항원 결합 구성원, 및 제2 구성원, 예를 들어 세포내 신호전달 구성원 상에 독립적으로 복수의, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 스위치 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 제1 구성원은 복수의 제1 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반의 스위치 도메인을 포함할 수 있고, 제2 구성원은 복수의 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FRB-기반의 스위치 도메인을 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 제1 구성원은 제1 및 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반의 스위치 도메인 및 FRB-기반의 스위치 도메인을 포함할 수 있고, 제2 구성원은 제1 및 제2 스위치 도메인, 예를 들어 FKBP-기반의 스위치 도메인 및 FRB-기반의 스위치 도메인을 포함할 수 있다.

[0344] 일 구현예에서, 세포내 신호전달 구성원은 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 일차 세포내 신호전달 도메인 및 하나 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다.

[0345] 일 구현예에서, 항원 결합 구성원은 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 하나 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 항원 결합 구성원은 본원에 기술된, 예를 들어 4-1BB, CD28, CD27, ICOS, 및 OX40으로부터 선택된 복수의, 예를 들어 2 또는 3개의 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고, 구현예에서 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함하지 않는다. 일 구현예에서, 항원 결합 구성원은 세포외로부터 세포내 방향으로 하기 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다: 4-1BB-CD27; 4-1BB-CD27; CD27-4-1BB; 4-1BB-CD28; CD28-4-1BB; OX40-CD28; CD28-OX40; CD28-4-1BB; 또는 4-1BB-CD28. 이러한 구현예에서, 세포내 결합 구성원은 CD3제타 도메인을 포함한다. 하나의 이러한 구현예에서, RCAR은 (1) 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 및 2개의 공동자극 도메인 및 제1 스위치 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원; 및 (2) 막관통 도메인 또는 막 테더링 도메인 및 적어도 하나의 일차 세포내 신호전달 도메인, 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호

전달 도메인을 포함한다.

[0346] 일 구현예는 항원 결합 구성원이 CAR 세포의 표면에 테더링되지 않은 RCAR을 제공한다. 이는, 항원 결합 구성원을 암호화하는 서열로 세포를 형질전환시키지 않고서도, 하나 이상의 항원 결합 도메인과 편리하게 쌍을 형성하는 세포내 신호전달 구성원을 세포가 갖게 한다. 이러한 구현예에서, RCAR은 1) 제1 스위치 도메인, 막관통 도메인, 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어, 일차 세포내 신호전달 도메인, 및 제1 스위치 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 구성원; 및 2) 항원 결합 도메인, 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원으로서, 이때, 항원 결합 구성원은 막관통 도메인 또는 막 테더링 도메인을 포함하지 않고, 선택적으로, 세포내 신호전달 도메인을 포함하지 않는 것인 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, RCAR은 3) 제2 항원 결합 도메인, 예를 들어 항원 결합 도메인이 결합하는 것과는 상이한 항원에 결합하는 제2 항원 결합 도메인; 및 제2 스위치 도메인을 포함하는 제2 항원 결합 구성원을 추가로 포함할 수 있다.

[0347] 또한, 항원 결합 구성원이 이중특이적 활성화 및 표적화 능력을 포함하는 RCAR이 본원에 제공된다. 이러한 구현예에서, 항원 결합 구성원은 복수의, 예를 들어 2, 3, 4, 또는 5개의 항원 결합 도메인, 예를 들어 scFv를 포함할 수 있고, 여기서 각각의 항원 결합 도메인은 표적 항원, 예를 들어 상이한 항원 또는 동일한 항원, 예를 들어 동일한 항원 상의 동일한 또는 상이한 에피토프에 결합한다. 일 구현예에서, 복수의 항원 결합 도메인은 탠덤으로 존재하고, 선택적으로 링커 또는 힌지 영역이 각각의 항원 결합 도메인 사이에 배치된다. 적합한 링커 및 힌지 영역이 본원에 기술되어 있다.

[0348] 일 구현예는 증식의 전환을 가능하게 하는 구성을 갖는 RCAR을 제공한다. 이러한 구현예에서, RCAR은 1) 선택적으로, 막관통 도메인 또는 막 테더링 도메인; 예컨대, 4-1BB, CD28, CD27, ICOS, 및 OX40로부터 선택된, 1개 이상의 공동자극 신호전달 도메인; 및 스위치 도메인;을 포함하는 세포내 신호전달 구성원; 및 2) 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 및 일차 세포내 신호전달 도메인, 예컨대, CD3제타 도메인을 포함하는 항원 결합 구성원을 포함하고, 이때, 항원 결합 구성원은 스위치 도메인을 포함하지 않거나, 또는 세포내 신호전달 구성원 상의 스위치 도메인과 이량체화하는 스위치 도메인을 포함하지 않는다. 일 구현예에서, 항원 결합 구성원은 공동자극 신호전달 도메인을 포함하지 않는다. 일 구현예에서, 세포내 신호전달 구성원은 동종이량체화 스위치로부터의 스위치 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 세포내 신호전달 구성원은 이종이량체화 스위치의 제1 스위치 도메인을 포함하고, RCAR은 이종이량체화 스위치의 제2 스위치 도메인을 포함하는 제2 세포내 신호전달 구성원을 포함한다. 이러한 구현예에서, 제2 세포내 신호전달 구성원은 세포내 신호전달 구성원과 동일한 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 이량체화 스위치는 세포내에 존재한다. 일 구현예에서, 이량체화 스위치는 세포외에 존재한다.

[0349] 본원에 기술된 임의의 RCAR 구성에서, 제1 및 제2 스위치 도메인은 본원에 기술된 바와 같은 FKBP-FRB-기반의 스위치를 포함한다.

[0350] 또한, 본원에 기술된 RCAR을 포함하는 세포가 본원에 제공된다. RCAR을 발현하도록 조작된 임의의 세포가 RCARX 세포로서 사용될 수 있다. 일 구현예에서 RCARX 세포는 T 세포이고, RCART 세포로서 지칭된다. 일 구현예에서, RCARX 세포는 NK 세포이고, RCARN 세포로서 지칭된다.

[0351] 또한, RCAR 암호화 서열을 포함하는 핵산 및 벡터가 본원에 제공된다. RCAR의 다양한 요소를 암호화하는 서열은 동일한 핵산 분자, 예를 들어 동일한 플라스미드 또는 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 배치될 수 있다. 일 구현예에서, (i) 항원 결합 구성원을 암호화하는 서열 및 (ii) 세포내 신호전달 구성원을 암호화하는 서열은 동일한 핵산, 예를 들어 벡터 상에 존재할 수 있다. 상응하는 단백질의 생성은, 예를 들어 개별 프로모터의 사용에 의해, 또는 이중시스트론성 전사 생성물(단일 번역 생성물의 절단에 의해 또는 2개의 개별 단백질 생성물의 번역에 의해 2가지의 단백질의 생성을 초래할 수 있음)의 사용에 의해 달성될 수 있다. 일 구현예에서, 절단 가능한 펩티드를 암호화하는 서열, 예를 들어 P2A 또는 F2A 서열은 (i)과 (ii) 사이에 배치된다. 일 구현예에서, IRES, 예를 들어 EMCV 또는 EV71 IRES를 암호화하는 서열이 (i)과 (ii) 사이에 배치된다. 이들 구현예에서, (i) 및 (ii)는 단일 RNA로서 전사된다. 일 구현예에서, (i) 및 (ii)가 개별 mRNA로서 전사되도록, 제1 프로모터는 (i)에 작동 가능하게 연결되고, 제2 프로모터는 (ii)에 작동 가능하게 연결된다.

[0352] 대안적으로, RCAR의 다양한 요소를 암호화하는 서열은 상이한 핵산 분자, 예를 들어 상이한 플라스미드 또는 벡터, 예를 들어 바이러스 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 배치될 수 있다. 예를 들어 (i) 항원 결합 구성원을 암호화하는 서열은 제1 핵산, 예를 들어 제1 벡터 상에 존재할 수 있고, (ii) 세포내 신호전달 구성원을 암호화하는 서열은 제2 핵산, 예를 들어 제2 벡터 상에 존재할 수 있다.

[0353] *이량체화 스위치*

[0354] 이량체화 스위치는 비-공유적이거나 공유적일 수 있다. 비-공유적 이량체화 스위치에서, 이량체화 분자는 스위치 도메인 사이의 비-공유적 상호작용을 촉진한다. 공유적 이량체화 스위치에서, 이량체화 분자는 스위치 도메인 사이의 공유적 상호작용을 촉진한다.

[0355] 일 구현예에서, RCAR은 FKBP/FRAP 또는 FKBP/FRB-기반의 이량체화 스위치를 포함한다. FKBP12(FKBP 또는 FK506 결합 단백질)는 천연 생성물 면역억제 약물인 라파마이신에 대한 초기 세포내 표적으로서의 역할을 하는 풍부한 세포질 단백질이다. 라파마이신은 FKBP 및 대형 PI3K 상동체 FRAP(RAFT, mTOR)에 결합한다. FRB는 FKBP-라파마이신 복합체에 결합하기에 충분한 FRAP의 93개의 아미노산 부분이다(문헌[Chen, J., Zheng, X. F., Brown, E. J. & Schreiber, S. L. (1995) *Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue*. Proc Natl Acad Sci U S A 92: 4947-51]).

[0356] 구현예에서, FKBP/FRAP, 예를 들어 FKBP/FRB 기반의 스위치는 이량체화 분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파마이신 유사체를 사용할 수 있다.

[0357] FKBP의 예시적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0358]
DVPDYASLGGPSSPKKKRKVSRGVQVETISPGDGRTFPKRGQT
CVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQM
SVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLETSY

[0359] (서열번호 275)

[0360] 구현예에서, FKBP 스위치 도메인은 라파마이신 또는 라파로그의 존재 하에 FRB 또는 이의 단편 또는 유사체와 결합하는 능력을 갖는 FKBP의 단편을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, FKBP 스위치 도메인은 다음의 아미노산 서열을 포함한다:

[0361]
VQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRN
KPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHP
GIIPPHATLVFDVELLKLETS

[0362] (서열번호 276)

[0363] FRB의 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0364]
ILWHEMWHEG LEEASRLYFG ERNVKGMFEV LEPLHAMMER GPQTLKETSF
NQAYGRDLME AQEWCRKYMK SGNVKDLTQA WDLYYHVFRR ISK

[0365] (서열번호 277)

[0366] 본원에서 사용된 용어 "FKBP/FRAP, 예를 들어, FKBP/FRB 기반의 스위치"는 다음을 포함하는 이량체화 스위치를 지칭한다: 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001의 존재 하에 FRB, 또는 이의 단편 또는 유사체와 결합하는 능력을 갖는 FKBP 단편 또는 이의 유사체를 포함하고, 서열번호 275 또는 276의 FKBP 서열과 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%의 동일성을 갖거나 또는 서열번호 275 또는 276의 FKBP 서열과 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기만큼 상이한 제1 스위치 도메인; 및 라파마이신 또는 라파로그의 존재 하에 FRB, 또는 이의 단편 또는 유사체와 결합하는 능력을 갖는 FRB 단편 또는 이의 유사체를 포함하고, 서열번호 277의 FRB 서열과 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%의 동일성을 갖거나 또는 서열번호 277의 FRB 서열과 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기만큼 상이한 제2 스위치 도메인. 일 구현예에서, 본원에 기술된 RCAR은 서열번호 275(또는 서열번호 276)에 개시된 아미노산 잔기를 포함하는 하나의 스위치 도메인 및 서열번호 277에 개시된 아미노산 잔기를 포함하는 하나의 스위치 도메인을 포함한다.

[0367] 구현예에서, FKBP/FRB 이량체화 스위치는 FRB-기반 스위치 도메인, 예를 들어 변형된 FRB 스위치 도메인, FKBP-기반 스위치 도메인과 이량체화 분자, 예를 들어 라파마이신 또는 라파로그, 예를 들어 RAD001 사이에 변경된, 예를 들어 증진된 복합체 형성을 나타내는 변형된 FRB 스위치 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 변형된 FRB

스위치 도메인은 아미노산 위치(들) L2031, E2032, S2035, R2036, F2039, G2040, T2098, W2101, D2102, Y2105, 및 F2108에서의 돌연변이로부터 선택된, 하나 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 돌연변이를 포함하며, 여기서 야생형 아미노산은 임의의 다른 자연 발생 아미노산으로 돌연변이된다. 일 구현예에서, 돌연변이체 FRB는 E2032에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 E2032는 페닐알라닌(E2032F), 메티오닌(E2032M), 아르기닌(E2032R), 발린(E2032V), 티로신(E2032Y), 이소류신(E2032I), 예를 들어 서열번호 278, 또는 류신(E2032L), 예를 들어 서열번호 279로 돌연변이된다. 일 구현예에서, 돌연변이체 FRB는 T2098에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 T2098은 페닐알라닌(T2098F) 또는 류신(T2098L), 예를 들어 서열번호 280으로 돌연변이된다. 일 구현예에서, 돌연변이체 FRB는 E2032 및 T2098에서 돌연변이를 포함하고, 여기서 E2032는 임의의 아미노산으로 돌연변이되고, 여기서 T2098은 임의의 아미노산, 예를 들어 서열번호 281로 돌연변이된다. 일 구현예에서, 돌연변이체 FRB는 E2032I 및 T2098L 돌연변이, 예를 들어 서열번호 282를 포함한다. 일 구현예에서, 돌연변이체 FRB는 E2032L 및 T2098L 돌연변이, 예를 들어 서열번호 283을 포함한다.

[0368] [표 14]

[0369] 이량체화 분자에 대한 친화도가 증가된 예시적인 돌연변이체 FRB.

FRB 돌연변이체	아미노산 서열	서열 번호
E2032I 돌연변이체	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKE TSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKTS	278
E2032L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKE TSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKTS	279
T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKE TSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	280
E2032, T2098 돌연변이체	ILWHEMWHEGLXEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKE TSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLXQAWDLYYHVFRRISKTS , 이때, x는 임의의 아미노산 잔기	281
E2032I, T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKE TSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	282
E2032L, T2098L 돌연변이체	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKE TSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKTS	283

[0370]

[0371] 다른 적합한 이량체화 스위치는 GyrB-GyrB 기반 이량체화 스위치, 지베렐린-기반 이량체화 스위치, 태그/바인더 이량체화 스위치, 및 할로-태그/스냅-태그 이량체화 스위치를 포함한다. 본원에 제공된 안내에 따르면, 이러한 스위치 및 관련 이량체화 분자는 숙련자에게 명백할 것이다.

[0372] *이량체화 분자*

[0373] 스위치 도메인 사이의 회합은 이량체화 분자에 의해 촉진된다. 이량체화 분자의 존재 하에, 스위치 도메인 사이의 상호작용 또는 회합은 제1 스위치 도메인과 회합된, 예를 들어 이에 융합된 폴리펩티드와 제2 스위치 도메인과 회합된, 예를 들어 이에 융합된 폴리펩티드 사이의 신호 전달을 허용한다. 비-제한적 수준의 이량체화 분자의 존재 하에, 신호 전달은 예를 들어 본원에 기술된 시스템에서 측정할 경우 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 5, 10, 50, 100배 증가된다.

[0374] 라파마이신 및 라파마이신 유사체(때때로 라파로그로 지칭됨), 예를 들어 RAD001은 본원에 기술된 FKBP/FRB-기반 이량체화 스위치에서 이량체화 분자로서 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 이량체화 분자는 라파마이신(시롤리무스(sirolimus)), RAD001(에베롤리무스(everolimus)), 조타롤리무스(zotarolimus), 템시롤리무스(temsirolimus), AP-23573(리다포롤리무스(ridaforolimus)), 비올리무스(biolimus) 및 AP21967로부터 선택될 수 있다. FKBP/FRB-기반 이량체화 스위치와 함께 사용하기에 적합한 추가의 라파마이신 유사체는 섹션 표제 "병용 요법", 또는 서브섹션 표제 "낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제와의 조합"에 추가로 기술되어 있다.

[0375] *스플릿 CAR*

[0376] 일부 구현예에서, CAR 발현 세포는 스플릿 CAR을 사용한다. 스플릿 CAR 접근법은 본원에 참조로 포함되는 국제 공개 제2014/055442호 및 제2014/055657호에 보다 상세히 설명되어 있다. 간략하게, 스플릿 CAR 시스템은 제1 항원 결합 도메인 및 공동자극 도메인(예를 들어 41BB)을 갖는 제1 CAR을 발현하는 세포를 포함하고, 세포는 또한 제2 항원 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인(예를 들어 CD3 제타)을 갖는 제2 CAR을 발현한다. 세포가 제1 항원을 만난 경우에, 공동자극 도메인이 활성화되고 세포는 증식한다. 세포가 제2 항원을 만난 경우에, 세포내 신호전달 도메인이 활성화되고 세포 사멸 활성이 시작된다. 따라서, CAR 발현 세포는 오직 둘 다의 항원의

존재 하에서만 완전히 활성화된다. 구현예에서 제1 항원 결합 도메인은 BCMA를 인식하고, 예를 들어, 본원에 기술된 항원 결합 도메인을 포함하고, 제2 항원 결합 도메인은 급성 골수 백혈병 세포 상에 발현되는 항원, 예를 들어, CD123, CLL-1, CD34, FLT3, 또는 폴레이트 수용체 베타를 인식한다. 구현예에서 제1 항원 결합 도메인은 BCMA를 인식하고, 예를 들어, 본원에 기술된 항원 결합 도메인을 포함하고, 제2 항원 결합 도메인은 B-세포 상에 발현되는 항원, 예를 들어, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, FLT-3, ROR1, CD79b, CD179b, 또는 CD79a를 인식한다.

[0377] **안정성 및 돌연변이**

[0378] 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv 분자(예를 들어 가용성 scFv)의 안정성은 통상적인 대조군 scFv 분자 또는 전장 항체의 생물물리학적 특성(예를 들어 열안정성)을 참조하여 평가될 수 있다.

[0379] 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 개선된 열안정성은 후속적으로 전체 CART-BCMA 구축물에 부여되어, CART-BCMA 구축물의 개선된 치료 특성을 야기한다. 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 열안정성은 통상적인 항체와 비교하여 적어도 약 2℃ 또는 3℃ 개선될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 통상적인 항체와 비교하여 1℃ 개선된 열안정성을 갖는다. 또 다른 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 통상적인 항체와 비교하여 2℃ 개선된 열안정성을 갖는다. 또 다른 구현예에서, scFv는 종래의 항체와 비교하여 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15℃ 개선된 열안정성을 갖는다. 비교는 예를 들어 본원에 개시된 scFv 분자와, 이 scFv의 VH 및 VL이 유래된 항체의 scFv 분자 또는 Fab 단편 사이에서 이루어질 수 있다. 열안정성은 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어 일부 구현예에서, Tm이 측정될 수 있다. Tm 측정 방법 및 단백질 안정성을 결정하는 다른 방법이 하기에 보다 상세하게 기술되어 있다.

[0380] scFv의 돌연변이(가용성 scFv의 인간화 또는 직접 돌연변이 유발을 통하여 생김)는 scFv의 안정성을 변경하고 scFv 및 CART33 구축물의 전체 안정성을 개선할 수 있다. 인간 scFv의 안정성을 Tm, 변성 온도 및 응집 온도와 같은 측정치를 사용하여 뮤린 scFv와 비교할 수 있다.

[0381] 돌연변이체 scFv의 결합능은 실시예에 기술된 분석법을 사용하여 결정될 수 있다.

[0382] 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인, 예컨대, scFv는 돌연변이된 scFv가 CART-BCMA 구축물에 개선된 안정성을 부여하도록 인간화 과정으로부터 발생한 적어도 1개의 돌연변이를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 항-BCMA 도메인, 예를 들어 scFv는 돌연변이된 scFv가 CART-BCMA 구축물에 개선된 안정성을 부여하도록 인간화 과정으로부터 발생한 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 돌연변이를 포함한다.

[0383] *단백질 안정성의 평가 방법*

[0384] 항원 결합 도메인의 안정성은 예를 들어 하기 기술된 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 이러한 방법은 가장 덜 안정적인 도메인이 먼저 폴딩해제되거나 또는 협동적으로 폴딩해제되는 다중도메인 유닛(예를 들어 단일의 폴딩해제 전이를 나타내는 다중도메인 단백질)의 전체적인 안정성 역치를 제한하는 다중 열적 폴딩해제 전이의 결정을 가능하게 한다. 가장 덜 안정적인 도메인은 수많은 추가의 방식으로 확인될 수 있다. 돌연변이 유발은 어떤 도메인이 전체 안정성을 제한하는지를 프로빙하기 위해 수행될 수 있다. 추가로, 다중도메인 단백질의 프로테아제 저항성은, 가장 덜 안정적인 도메인이 DSC 또는 다른 분광학적 방법을 통해 본질적으로 폴딩해제되는 것으로 공지된 조건 하에 수행될 수 있다(문헌[Fontana, *et al.*, (1997) Fold. Des., 2: R17-26]; 문헌[Dimasi *et al.* (2009) J. Mol. Biol. 393: 672-692]). 일단 가장 덜 안정적인 도메인이 확인되면, 이러한 도메인(또는 그의 부분)을 암호화하는 서열을 방법에서 테스트 서열로서 사용할 수 있다.

[0385] *a) 열안정성*

[0386] 조성물의 열안정성은 당해 분야에 공지된 수많은 비 제한적 생물물리학적 또는 생화학적 기술을 사용하여 분석될 수 있다. 특정 구현예에서, 열안정성은 분석적 분광법에 의해 평가된다.

[0387] 예시적인 분석적 분광분석 방법으로는 시차 주사 열량측정법(DSC)이 있다. DSC는 대부분의 단백질 또는 단백질 도메인의 폴딩해제를 수반하는 열 흡수에 감수성인 열량계를 사용한다(예를 들어 문헌[Sanchez-Ruiz, et al., Biochemistry, 27:1648-52, 1988] 참조). 단백질의 열안정성을 결정하기 위해, 단백질의 샘플을 열량계 내로 삽입하고, 온도를 Fab 또는 scFv가 폴딩해제될 때까지 상승시킨다. 단백질이 폴딩해제되는 온도는 전체적인 단백질 안정성을 나타낸다.

[0388] 또 다른 예시적인 분석적 분광분석 방법으로는 원편광 이색성(CD) 분광법이 있다. CD 분광분석법은 온도 증가의

함수로서 조성물의 광학 활성을 측정한다. 원편광 이색성(CD) 분광법은 구조적 비대칭으로 인해 발생하는 좌선회 편광 대 우선회 편광의 흡광도의 차이를 측정한다. 불규칙적 또는 폴딩해제 구조는 규칙적 또는 폴딩 구조의 것과 매우 상이한 CD 스펙트럼을 초래한다. CD 스펙트럼은 증가하는 온도의 변성 효과에 대한 단백질의 감수성을 반영하고, 따라서 단백질의 열안정성을 나타낸다(문헌[van Mierlo and Steemsma, J. Biotechnol., 79(3):281-98, 2000] 참조).

[0389] 열안정성을 측정하기 위한 또 다른 예시적인 분석적 분광분석 방법으로는 형광 방출 분광법이 있다(상기 문헌[van Mierlo and Steemsma] 참조). 열안정성을 측정하기 위한 또 다른 예시적인 분석적 분광분석 방법으로는 핵자기 공명(NMR) 분광법이 있다(예를 들어 상기 문헌[van Mierlo and Steemsma] 참조).

[0390] 조성물의 열안정성은 생화학적으로 측정될 수 있다. 열안정성을 평가하기 위한 예시적인 생화학적 방법으로는 열 챌린지 분석법이 있다. "열 챌린지 분석법"에서, 조성물은 설정된 기간 동안 소정의 범위의 상승된 온도로 처리된다. 예를 들어 일부 구현예에서, 테스트 scFv 분자 또는 scFv 분자 함유 분자는 소정의 범위의 증가하는 온도로, 예를 들어 1 내지 1.5시간 동안 처리된다. 이어서, 단백질의 활성을 관련 생화학적 분석법에 의해 분석한다. 예를 들어 단백질이 결합 단백질(예를 들어 scFv 또는 scFv 함유 폴리펩티드)인 경우에, 결합 단백질의 결합 활성은 기능적 또는 정량적 ELISA에 의해 결정될 수 있다.

[0391] 이러한 분석법은 에스케리키아 콜라이 및 고처리량 스크리닝을 사용하여 고처리량 포맷 및 실시예에 개시된 포맷으로 수행될 수 있다. 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv 변이체의 라이브러리는 당해 분야에 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv 발현이 유도될 수 있고, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 열 챌린지로 처리될 수 있다. 챌린지된 테스트 샘플을 결합에 대해 분석할 수 있고, 안정적인 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv를 규모 확대하여 추가로 특성화할 수 있다.

[0392] 열안정성은 임의의 상기 기술(예를 들어 분석적 분광분석 기술)을 사용하여 조성물의 용융 온도(Tm)를 측정함으로써 평가된다. 용융 온도는 조성물의 분자의 50%가 폴딩된 상태로 존재하는 열 전이 곡선의 중간점의 온도이다(예를 들어 문헌[Dimasi *et al*. (2009) J. Mol Biol. 393: 672-692] 참조). 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 Tm 값은 약 40℃, 41℃, 42℃, 43℃, 44℃, 45℃, 46℃, 47℃, 48℃, 49℃, 50℃, 51℃, 52℃, 53℃, 54℃, 55℃, 56℃, 57℃, 58℃, 59℃, 60℃, 61℃, 62℃, 63℃, 64℃, 65℃, 66℃, 67℃, 68℃, 69℃, 70℃, 71℃, 72℃, 73℃, 74℃, 75℃, 76℃, 77℃, 78℃, 79℃, 80℃, 81℃, 82℃, 83℃, 84℃, 85℃, 86℃, 87℃, 88℃, 89℃, 90℃, 91℃, 92℃, 93℃, 94℃, 95℃, 96℃, 97℃, 98℃, 99℃, 100℃이다. 일부 구현예에서, IgG의 Tm 값은 약 40℃, 41℃, 42℃, 43℃, 44℃, 45℃, 46℃, 47℃, 48℃, 49℃, 50℃, 51℃, 52℃, 53℃, 54℃, 55℃, 56℃, 57℃, 58℃, 59℃, 60℃, 61℃, 62℃, 63℃, 64℃, 65℃, 66℃, 67℃, 68℃, 69℃, 70℃, 71℃, 72℃, 73℃, 74℃, 75℃, 76℃, 77℃, 78℃, 79℃, 80℃, 81℃, 82℃, 83℃, 84℃, 85℃, 86℃, 87℃, 88℃, 89℃, 90℃, 91℃, 92℃, 93℃, 94℃, 95℃, 96℃, 97℃, 98℃, 99℃, 100℃이다. 일부 구현예에서, 다가 항체의 Tm 값은 약 40℃, 41℃, 42℃, 43℃, 44℃, 45℃, 46℃, 47℃, 48℃, 49℃, 50℃, 51℃, 52℃, 53℃, 54℃, 55℃, 56℃, 57℃, 58℃, 59℃, 60℃, 61℃, 62℃, 63℃, 64℃, 65℃, 66℃, 67℃, 68℃, 69℃, 70℃, 71℃, 72℃, 73℃, 74℃, 75℃, 76℃, 77℃, 78℃, 79℃, 80℃, 81℃, 82℃, 83℃, 84℃, 85℃, 86℃, 87℃, 88℃, 89℃, 90℃, 91℃, 92℃, 93℃, 94℃, 95℃, 96℃, 97℃, 98℃, 99℃, 100℃이다.

[0393] 열안정성은 또한 분석적 열량측정 기술(예를 들어 DSC)을 사용하여 조성물의 비열 또는 열용량(Cp)을 측정함으로써 평가된다. 조성물의 비열은 1 mol의 물의 온도를 1℃ 상승시키기 위해 필요한 에너지(예를 들어 kcal/mol 단위)이다. 큰 Cp는 변성 또는 불활성 단백질 조성물의 특징이다. 조성물의 열용량의 변화(ΔCp)는 그의 열 전이 이전 및 이후에 조성물의 비열을 결정함으로써 측정된다. 열안정성은 또한 폴딩해제의 깁스(Gibbs) 자유 에너지(ΔG), 폴딩해제의 엔탈피(ΔH), 또는 폴딩해제의 엔트로피(ΔS)를 비롯한 열역학적 안정성의 다른 파라미터를 측정하거나 결정함으로써 평가될 수 있다. 상기 생화학적 분석법 중 하나 이상(예를 들어 열 챌린지 분석법)이, 조성물의 50%가 그의 활성(예를 들어 결합 활성)을 보유하는 온도(즉, T_c 값)를 결정하는데 사용된다.

[0394] 또한, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv에 대한 돌연변이는 비 돌연변이된 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv와 비교하여 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 열안정성을 변경시킨다. 인간 또는 인간화 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv가 BCMA 구축물 내로 혼입된 경우에, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 인간화 scFv는 전체 항-BCMA CART 구축물에 열안정성을 부여한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv에 열안정성을 부여하는 단일 돌연변이를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv는 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv에 열안정성을 부여하는 다중 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv 내의 다중 돌연변이는 항-BCMA 결

합 도메인, 예를 들어 scFv의 열안정성에 상가적 효과를 갖는다.

[0395] *b) 응집(%)*

[0396] 조성물의 안정성은 그의 응집 성향을 측정함으로써 결정될 수 있다. 응집은 수많은 비 제한적인 생화학적 또는 생물물리학적 기술에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어 크로마토그래피, 예를 들어 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 사용하여 조성물의 응집을 평가할 수 있다. SEC는 크기에 기초하여 분자를 분리한다. 컬럼은, 이온 및 소분자를 내부에 수용하지만 큰 것은 수용하지 않을 중합체 겔의 반-고체 비드로 채워진다. 단백질 조성물이 컬럼의 상단에 적용되는 경우에, 콤팩트 폴딩 단백질(즉, 비 응집된 단백질)은 큰 단백질 응집체가 이용할 수 있는 것보다 더 큰 부피의 용매의 도처에 분포된다. 그 결과, 큰 응집체는 컬럼을 관통하여 보다 신속하게 이동하고, 이러한 방식으로 혼합물이 그의 성분으로 분리되거나 분획화될 수 있다. 각각의 분획은 그것이 겔로부터 용리됨에 따라 개별적으로 정량화될 수 있다(예를 들어 광 산란에 의해). 따라서, 조성물의 응집(%)는 분획의 농도를 겔에 적용된 단백질의 총 농도와 비교함으로써 결정될 수 있다. 안정적인 조성물은 컬럼으로부터 본질적으로 단일의 분획으로서 용리되고, 용리 프로파일 또는 크로마토그램에서 본질적으로 단일 피크로 나타난다.

[0397] *c) 결합 친화도*

[0398] 조성물의 안정성은 그의 표적 결합 친화도를 결정함으로써 평가될 수 있다. 결합 친화도를 결정하기 위한 매우 다양한 방법이 당해 분야에 공지되어 있다. 결합 친화도를 결정하기 위한 예시적인 방법은 표면 플라즈몬 공명을 사용한다. 표면 플라즈몬 공명은 예를 들어 비아코어(BIAcore) 시스템(Pharmacia Biosensor AB, 스웨덴 웁살라 및 미국 뉴저지주 피스카타웨이 소재)을 사용하여 바이오센서 매트릭스 내에서 단백질 농도의 변경을 검출함으로써 실시간 생물특이적 상호작용의 분석을 가능하게 하는 광학 현상이다. 추가의 설명에 대해서는, 문헌[Jonsson, U., et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26]; 문헌[Jonsson, U., i(1991) Biotechniques 11:620-627]; 문헌[Johnsson, B., *et al.* (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131]; 및 문헌[Johnnson, B., *et al.* (1991) Anal. Biochem. 198:268-277]을 참조한다.

[0399] 일 양태에서, CAR의 항원 결합 도메인은 본원에 기술된 항원 결합 도메인 아미노산 서열과 상동성인 아미노산 서열을 포함하고, 항원 결합 도메인은 본원에 기술된 항-BCMA 항체 단편의 목적하는 기능적 특성을 보유한다. 하나의 구체적 양태에서, 본 발명의 CAR 조성물은 항체 단편을 포함한다. 추가의 양태에서, 항체 단편은 scFv를 포함한다.

[0400] 다양한 양태에서, CAR의 항원 결합 도메인은 하나의 또는 둘 다의 가변 영역(예를 들어 VH 및/또는 VL) 내의, 예를 들어 하나 이상의 CDR 영역 내의 및/또는 하나 이상의 프레임워크 영역 내의 하나 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 조작된다. 하나의 구체적 양태에서, 본 발명의 CAR 조성물은 항체 단편을 포함한다. 추가의 양태에서, 항체 단편은 scFv를 포함한다.

[0401] 본 발명의 항체 또는 항체 단편은, 아미노산 서열은 변경되지만 (예를 들어 야생형으로부터) 원하는 활성은 변경되지 않도록 추가로 변형될 수 있음을 당업자는 이해할 것이다. 예를 들어 "비필수" 아미노산 잔기에서의 아미노산 치환, 예를 들어, 보존적 치환을 야기하는 추가의 뉴클레오티드 치환, 예를 들어, 보존적 치환이 단백질에 대해 이루어질 수 있다. 예를 들어 분자 내 비필수 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 패밀리로부터의 또 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 아미노산의 스트링은 측쇄 패밀리 구성원의 순서 및/또는 조성이 상이한 구조적으로 유사한 스트링으로 대체될 수 있고, 예를 들어 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 보존적 치환이 이루어질 수 있다.

[0402] 염기성 측쇄(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함한, 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리가 당해 분야에 정의되어 있다.

[0403] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에서 퍼센트 동일성은 동일한 2개 이상의 서열을 지칭한다. 다음의 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하여 또는 수동 정렬 및 육안 검사에 의해 측정 시, 비교창 또는 지정된 영역에 걸쳐 최대 상응을 위해 비교 및 정렬된 경우, 2개의 서열이 명시된 백분율(예를 들어, 명시된 영역에 걸쳐, 또는 명시되지 않은 경우에 전체 서열에 걸쳐, 60%의 동일성, 선택적으로 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 동일성)의 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드를 갖는 경우에, 2개의 서열은 "실질

적으로 동일하다". 선택적으로, 동일성은 적어도 약 50개의 뉴클레오티드(또는 10개의 아미노산) 길이의 영역에 걸쳐, 또는 더욱 바람직하게는 100개 내지 500개 또는 1000개 이상의 뉴클레오티드(또는 20개, 50개, 200개 이상의 아미노산) 길이의 영역에 걸쳐 존재한다.

[0404] 서열 비교를 위해, 전형적으로 하나의 서열은 테스트 서열이 비교되는 기준 서열로서 작용한다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우에, 테스트 및 기준 서열은 컴퓨터에 입력되고, 필요한 경우에 하위 서열 좌표가 지정되고, 서열 알고리즘 프로그램 파라미터가 지정된다. 디폴트 프로그램 파라미터가 사용될 수 있거나, 대안적인 파라미터가 지정될 수 있다. 그런 다음, 서열 비교 알고리즘은 프로그램 파라미터에 기초하여, 기준 서열에 대한 테스트 서열의 서열 동일성(%)을 계산한다. 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 비교를 위한 서열의 최적의 정렬은 예를 들어 문헌[Smith and Waterman, (1970) Adv. Appl. Math. 2:482 c]의 국소 상동성 알고리즘에 의해, 문헌[Needleman and Wunsch, (1970) J. Mol. Biol. 48:443]의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, 문헌[Pearson and Lipman, (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444]의 유사성 검색 방법에 의해, 이들 알고리즘의 컴퓨터 구현(미국 위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575 Genetics Computer Group의 위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지(Wisconsin Genetics Software Package) 내의 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA)에 의해, 또는 수동 정렬 및 육안 검사에 의해(예를 들어 문헌[Brent et al., (2003) Current Protocols in Molecular Biology] 참조) 수행될 수 있다.

[0405] 서열 동일성 및 서열 유사성 퍼센트를 결정하기에 적합한 알고리즘의 2가지 예로는 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이 있고, 이들은 각각 문헌[Altschul et al., (1977) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402]; 및 문헌[Altschul et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410]에 기술되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국립생물공학정보센터(National Center for Biotechnology Information)를 통해 공개적으로 이용 가능하다.

[0406] 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성 퍼센트는 또한, PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하여 ALIGN 프로그램(버전 2.0) 내에 포함된 문헌[E. Meyers and W. Miller, (1988) Comput. Appl. Biosci. 4:11-17]의 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있다. 또한, 두 아미노산 서열들 사이의 동일성(%)은 문헌[Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:444-453]의 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있는데, 이는 Blossom 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하여, GCG 소프트웨어 패키지(www.gcg.com에서 이용가능함) 내의 GAP 프로그램 내로 포함된 것이다.

[0407] 일 양태에서, 본 발명은 기능적으로 등가인 분자를 생성하는 출발 항체 또는 단편(예를 들어 scFv) 아미노산 서열의 변형을 고려한다. 예를 들어, CAR 내에 포함된, 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어, scFv의 VH 또는 VL은 항-BCMA 결합 도메인, 예를 들어 scFv의 출발 VH 또는 VL 프레임워크 영역의 적어도 약 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 동일성을 보유하도록 변형될 수 있다. 본 발명은 기능적으로 등가인 분자를 생성하기 위하여 전체 CAR 구축물의 변형, 예를 들어 CAR 구축물의 다양한 도메인의 하나 이상의 아미노산 서열에서의 변형을 고려한다. CAR 구축물은 출발 CAR 구축물의 적어도 약 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 동일성을 보유하도록 변형될 수 있다.

[0408] **CAR을 암호화하는 핵산 구축물**

[0409] 본 발명은 또한 본원에 기술된 하나 이상의 CAR 구축물을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 일 양태에서, 핵산 분자는 메신저 RNA 전사체로서 제공된다. 일 양태에서, 핵산 분자는 DNA 구축물로서 제공된다.

[0410] 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이며, 여기서 CAR은 항-BCMA 결합 도메인(예를 들어 인간 항-BCMA 결합 도메인), 막관통 도메인, 및 자극 도메인, 예를 들어 공동자극 신호전달 도메인 및/또는 일차 신호전달 도메인, 예를 들어 제타 쇄를 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인, 또는 이의 95 내지 99%의 동일성을 갖는 서열이다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 T 세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 쇄, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및 CD154로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질의 막관통 도메인이다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 결합 도메인은 힌지 영역, 예를 들어 본원에 기술된 힌지에 의해 막관통 도메인에 연결된다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산 분자는 일차 신호전달 도메인을 암호화하는 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 일차 신호전달 도메인은 CD3 제타, TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a,

CD79b, CD278 (ICOS), FcεRI, DAP10, DAP12, 또는 CD66d로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 단리된 핵산 분자는 공동자극 도메인을 암호화하는 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 공동자극 도메인은 MHC 부류 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린-유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CDS, ICAM-1, LFA-1(CD11a/CD18), 4-1BB(CD137), B7-H3, CDS, ICAM-1, ICOS(CD278), GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CD100(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a 및 CD83과 특이적으로 결합하는 리간드로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질의 기능적 신호전달 도메인이다.

[0411] 또 다른 양태에서, 본 발명은 서열번호 1의 리더 서열을 포함하는 CAR 구축물을 암호화하는 단리된 핵산 분자에 관한 것이다.

[0412] 또 다른 양태에서, 본 발명은 핵산 분자에 의해 암호화되는 단리된 폴리펩티드 분자에 관한 것이다.

[0413] 원하는 분자를 암호화하는 핵산 서열은 당해 분야에 공지된 재조합 방법을 사용하여, 예컨대 예를 들어 유전자를 발현하는 세포로부터 라이브러리를 스크리닝함으로써, 이를 포함하는 것으로 공지된 벡터로부터 유전자를 유도함으로써, 또는 표준 기술을 사용하여 이를 함유하는 세포 및 조직으로부터 직접 단리함으로써 수득할 수 있다. 대안적으로, 관심 유전자는 클로닝하기 보다는 합성적으로 생성할 수 있다.

[0414] 본 발명은 또한 본 발명의 DNA가 삽입된 벡터를 제공한다. 레트로바이러스, 예컨대 렌티바이러스로부터 유래된 벡터는 딸세포에서 이식유전자의 장기간의 안정적인 통합 및 이의 증식을 허용하기 때문에 장기적인 유전자 전달을 달성하기에 적합한 도구이다. 렌티바이러스 벡터는 비 증식 세포, 예컨대 간세포를 형질도입할 수 있다는 점에서 종양-레트로바이러스, 예컨대 뮤린 백혈병 바이러스로부터 유래된 벡터에 비해 추가의 장점을 갖는다. 렌티바이러스 벡터는 또한 낮은 면역원성의 추가의 장점을 갖는다. 레트로바이러스 벡터는 또한 예를 들어 감마레트로바이러스 벡터일 수 있다. 감마레트로바이러스 벡터에는, 예를 들어 프로모터, 패키징 신호(Ψ), 프라이머 결합 부위(PBS), 하나 이상(예를 들어 2개)의 장형 말단 반복체(LTR), 및 관심 이식유전자, 예를 들어 CAR을 암호화하는 유전자가 포함될 수 있다. 감마레트로바이러스 벡터에는 바이러스 구조 유전자, 예컨대 gag, pol, 및 env가 결여되어 있을 수 있다. 예시적인 감마레트로바이러스 벡터에는 뮤린 백혈병 바이러스(MLV), 비장-병소 형성 바이러스(SFFV), 및 골수증식성 육종 바이러스(MPSV), 및 이로부터 유래된 벡터가 포함된다. 다른 감마레트로바이러스 벡터가, 예를 들어 문헌[Tobias Maetzig et al., "Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application" Viruses. 2011 Jun; 3(6): 677-713]에 기술되어 있다.

[0415] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 원하는 CAR을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터는 아데노바이러스 벡터(A5/35)이다. 또 다른 구현예에서, CAR을 암호화하는 핵산의 발현은 트랜스포존, 예컨대 슬리핑 뷰티(sleeping beauty), CRISPR, CAS9, 및 징크 핑거 뉴클레아제를 사용하여 달성할 수 있다. 다음을 참조한다: 문헌[June et al. 2009*Nature Reviews Immunology* 9.10: 704-716](이는 본원에 참조로 포함됨).

[0416] 간단히 요약하면, CAR을 암호화하는 천연 또는 합성 핵산의 발현은 전형적으로 CAR 폴리펩티드 또는 이의 부분을 암호화하는 핵산을 프로모터에 작동 가능하게 연결하고, 구축물을 발현 벡터 내로 혼입시킴으로써 달성된다. 벡터는 복제 및 통합 진핵생물에 적합할 수 있다. 전형적인 클로닝 벡터는 전사 및 번역 종결인자, 개시 서열, 및 원하는 핵산 서열의 발현의 조절에 유용한 프로모터를 함유한다.

[0417] 본 발명의 발현 구축물은 또한 표준 유전자 전달 프로토콜을 사용하여 핵산 면역화 및 유전자 요법을 위해 사용될 수 있다. 유전자 전달을 위한 방법은 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,399,346호, 미국 특허 제5,580,859호, 미국 특허 제5,589,466호(본원에 그 전체가 참고로 포함됨)를 참조한다. 또 다른 구현예에서, 본 발명은 유전자 요법 벡터를 제공한다.

[0418] 핵산은 수많은 유형의 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 예를 들어 핵산은 플라스미드, 파지미드, 파지 유도체, 동물 바이러스 및 코스미드를 포함하지만 이에 한정되지는 않는 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 특히 관심 있는 벡터는 발현 벡터, 복제 벡터, 프로브 생성 벡터 및 서열결정 벡터를 포함한다.

[0419] 또한, 발현 벡터는 바이러스 벡터의 형태로 세포에 제공될 수 있다. 바이러스 벡터 기술은 당해 분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어 문헌[Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1 -4, Cold Spring Harbor Press, NY], 및 다른 바이러스학 및 분자 생물학 매뉴얼에 기술되어 있다. 벡터로서 유용한 바이러스는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스, 헤르페스 바이러스, 및 렌티바이러스를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일반적으로, 적합한 바이러스는 적어도 하나의 유기체에서의 기능적 복제 기점, 프로모터 서열, 간편한 제한 엔도뉴클레아제 부위, 및 하나 이상의 선택 가능 마커를 포함한다(예를 들어, 국제 공개 제2001/96584호; 국제 공개 제2001/29058호; 및 미국 특허 제6,326,193호).

[0420] 수많은 바이러스 기반 시스템이 포유류 세포 내로의 유전자 전달을 위해 개발된 바 있다. 예를 들어 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편리한 플랫폼을 제공한다. 선택된 유전자는 벡터 내로 삽입되고 당해 분야에 공지된 기술을 사용하여 레트로바이러스 입자 내에 패키징될 수 있다. 이어서, 재조합 바이러스는 단리되고, 생체 내 또는 생체 외에서 대상체의 세포로 전달될 수 있다. 수많은 레트로바이러스 시스템이 당해 분야에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다. 수많은 아데노바이러스 벡터가 당해 분야에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 렌티바이러스 벡터가 사용된다.

[0421] 추가의 프로모터 요소, 예를 들어 인핸서는 전사 개시의 빈도를 조절한다. 전형적으로, 이들은 출발 부위의 30 내지 110 bp 상류의 영역에 위치하지만, 수많은 프로모터는 또한 출발 부위의 하류에 기능적 요소를 함유하는 것으로 밝혀진 바 있다. 프로모터 요소 사이의 이격은 빈번하게 탄력적이어서, 프로모터 기능은 요소가 역전되거나 서로에 대해 이동할 때 보존된다. 티미딘 키나제(tk) 프로모터에서, 프로모터 요소 사이의 이격은, 활성이 감소하기 시작하기 전 50 bp 떨어질 때까지 증가될 수 있다. 프로모터에 따라, 개별 요소는 전사를 활성화하기 위해 협동적으로 또는 독립적으로 기능할 수 있는 것으로 보인다.

[0422] 포유동물 T 세포에서 CAR 이식유전자를 발현할 수 있는 프로모터의 예는 EF1a 프로모터이다. 고유 EF1a 프로모터는 아미노아실 tRNA의 리보솜으로의 효소적 전달을 담당하는 신장 인자-1 복합체의 알파 서브유닛의 발현을 유도한다. EF1a 프로모터는 포유동물 발현 플라스미드에서 광범하게 사용되며, 렌티바이러스 벡터 내로 클로닝된 이식유전자로부터 CAR 발현을 유도하는 데 유효한 것으로 밝혀진 바 있다. 예를 들어 문헌[Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)] 참조. 일 양태에서, EF1a 프로모터는 서열번호 11로서 제공된 서열을 포함한다.

[0423] 프로모터의 또 다른 예로는 극초기 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터 서열이 있다. 이 프로모터 서열은 이에 작동적으로 연결된 임의의 폴리뉴클레오티드 서열의 높은 수준의 발현을 유도할 수 있는 강력한 구성적 프로모터 서열이다. 그러나 시미안 바이러스 40(SV40) 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스(MMTV), 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 긴 말단 반복체(LTR) 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, 엡스타인 바(Epstein-Barr) 바이러스 극초기 프로모터, 라우스 육종 바이러스 프로모터와, 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 신장 인자-1α 프로모터, 헤모글로빈 프로모터, 및 크레아틴 키나제 프로모터와 같은, 그러나 이에 한정되는 것은 아닌 인간 유전자 프로모터를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다른 구성적 프로모터 서열이 또한 사용될 수 있다. 또한, 본 발명은 구성적 프로모터의 사용에 한정되지 않아야 한다. 유도성 프로모터도 본 발명의 일부로서 고려된다. 유도성 프로모터의 사용은 발현이 요망되는 경우에 작동적으로 연결된 폴리뉴클레오티드 서열의 발현을 개시시킬 수 있거나, 또는 발현이 요망되지 않는 경우에 발현을 종료시킬 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 유도성 프로모터의 예는 메탈로티오닌 프로모터, 글루코코르티코이드 프로모터, 프로게스테론 프로모터, 및 테트라사이클린 프로모터를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0424] 프로모터의 또 다른 예는 포스포글리세레이트 키나제(PGK) 프로모터이다. 구현예에서, 절두된 PGK 프로모터(예를 들어 야생형 PGK 프로모터 서열과 비교하여 하나 이상, 예를 들어 1, 2, 5, 10, 100, 200, 300 또는 400개의 뉴클레오티드 결실을 갖는 PGK 프로모터)가 바람직할 수 있다. 예시적 PGK 프로모터의 뉴클레오티드 서열은 아래에 제공된다.

야생형 PGK 프로모터

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTG
GCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCG
CCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAA
GGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTC
GCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCGCTTCTAGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTA
CACGCTCTGGGTCCCAGCCGCGGCGACGCAAAGGGCCTTGGTGCGGGTCTCGTCGGCGCAGGGACGC
GTTTGGGTCCCGACGGAACCTTTTCCGCGTTGGGGTTGGGGCACCATAAGCT (서열번호 190)

예시적 절두된 PGK 프로모터:

PGK100:
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG (서열번호 198)

PGK200:
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTG
GCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCG
CCAGCCGCGCGACGGTAACG (서열번호 191)

PGK300:
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTG
GCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCG
CCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAA
GGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCG
(서열번호192)

PGK400:
ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTG
GCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCGGGTAGCG
CCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAA
GGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTGGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTC
GCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCGCTTCTAGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTA
CACGCTCTGGGTCCCAGCCG (서열번호 193)

[0425]

[0426] 벡터는 또한 예를 들어 분비를 용이하게 하기 위한 신호 서열, 폴리아데닐화 신호 및 전사 종결인자(예를 들어 소 성장 호르몬(BGH) 유전자 유래), 에피솜 복제 및 원핵생물에서의 복제를 가능하게 하는 요소(예를 들어 SV40 원점 및 ColE1 또는 당해 분야에 공지되어 있는 다른 것) 및/또는 선택을 가능하게 하기 위한 요소(예를 들어 암피실린 저항성 유전자 및/또는 제오신 마커)를 포함할 수 있다.

[0427] CAR 폴리펩티드 또는 이의 부분의 발현을 평가하기 위해, 세포 내로 도입되는 발현 벡터는 또한 바이러스 벡터를 통해 형질감염되거나 감염될 것이 추구되는 세포의 집단으로부터 발현 세포를 확인 및 선택하는 것을 용이하게 하기 위한 선택 가능한 마커 유전자 또는 리포터 유전자 또는 이들 둘 다를 함유할 수 있다. 다른 양태에서, 선택 가능한 마커는 DNA의 개별 조각 상에 보유되고, 공동-형질감염 절차에 사용될 수 있다. 선택 가능한 마커 및 리포터 유전자 둘 다는 숙주 세포에서 발현이 가능하도록 하는 적절한 조절 서열 측면에 배치될 수 있다. 유용한 선택 가능한 마커는 예를 들어 항생제 저항성 유전자, 예컨대 neo 등을 포함한다.

[0428] 리포터 유전자는 잠재적으로 형질감염된 세포를 확인하고 조절 서열의 기능성을 평가하기 위해 사용된다. 일반적으로 리포터 유전자는, 수용 유기체 또는 조직에 존재하지 않거나 그에 의해 발현되지 않고, 그의 발현이 일부 용이하게 검출 가능한 특성, 예를 들어 효소적 활성에 의해 표시되는 폴리펩티드를 암호화하는 유전자이다. 리포터 유전자의 발현은 DNA가 수용 세포 내로 도입된 후 적합한 시점에 분석된다. 적합한 리포터 유전자는 루시퍼라제, 베타-갈락토시다제, 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제, 분비형 알칼리 포스파타제를 암호화하는 유전자, 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 포함할 수 있다(예를 들어 문헌[Ui-Tei et al., 2000 FEBS Letters 479: 79-82). 적합한 발현 시스템은 잘 알려져 있고, 공지된 기술을 사용하여 제조하거나 상업적으로 수득할 수 있다. 일반적으로, 리포터 유전자의 최고 수준의 발현을 보이는, 최소 5' 측면 배치 영역을 갖는 구축물은 프로모터로서 확인된다. 이러한 프로모터 영역은 리포터 유전자에 연결되고, 프로모터 유도 전사를 조정하는 능력에 대해 작용제를 평가하는 데 사용될 수 있다.

[0429] 일부 구현예에서, 벡터는 제2 CAR을 암호화하는 핵산을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 CAR은 예컨대, CD123, CD34, CLL-1, 폴레이트 수용체 베타, 또는 FLT3과 같은 급성 골수 백혈병 세포 상에 발현되는 표적; 또는 B 세포 상에 발현되는 표적, 예컨대, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, FLT-3, ROR1, CD79b, CD179b, 또는 CD79a에 대한 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 벡터는 제1 항원과 특이적으로 결합하며, 공동자극 신호전달 도메인을 갖지만, 일차 신호전달 도메인을 갖지 않는 세포내 신호전달 도메인을 포

함하는 제1 CAR을 암호화하는 핵산 서열, 및 제2의 상이한 항원과 특이적으로 결합하며, 일차 신호전달 도메인을 갖지만, 공동자극 신호전달 도메인을 갖지 않는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 암호화하는 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, 벡터는 BCMA 결합 도메인, 막관통 도메인 및 공동자극 도메인을 포함하는 제1 BCMA CAR을 암호화하는 핵산 및 BCMA 이외의 항원(예를 들어 AML 세포 상에서 발현되는 항원, 예를 들어 CD123, CD34, CLL-1, 폴레이트 수용체 베타, 또는 FLT3; 또는 B 세포 상에서 발현되는 항원, 예를 들어 CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, FLT-3, ROR1, CD79b, CD179b, 또는 CD79a)을 표적화하며 항원 결합 도메인, 막관통 도메인 및 일차 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 암호화하는 핵산을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 벡터는 BCMA 결합 도메인, 막관통 도메인 및 일차 신호전달 도메인을 포함하는 제1 BCMA CAR을 암호화하는 핵산, 및 BCMA 이외의 항원(예를 들어 AML 세포 상에서 발현되는 항원, 예를 들어 CD123, CD34, CLL-1, 폴레이트 수용체 베타, 또는 FLT3; 또는 B 세포 상에서 발현되는 항원, 예를 들어 CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, FLT-3, ROR1, CD79b, CD179b, 또는 CD79a)과 특이적으로 결합하며 항원에 대한 항원 결합 도메인, 막관통 도메인 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR을 암호화하는 핵산을 포함한다.

[0430] 일부 구현예에서, 벡터는 본원에 기술된 BCMA CAR을 암호화하는 핵산 및 억제성 CAR을 암호화하는 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, 억제성 CAR은 암 세포에서는 발견되지 않지만, 정상 세포, 예를 들어 또한 BCMA를 발현하는 정상 세포에서 발견되는 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 억제성 CAR은 억제성 분자의 세포내 도메인, 막관통 도메인 및 항원 결합 도메인을 포함한다. 예를 들어, 억제성 CAR의 세포내 도메인은 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3, 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGF 베타의 세포내 도메인일 수 있다.

[0431] 구현예에서, 벡터는 CAR, 예를 들어, 본원에 기술된 BCMA CAR 및 제2의 CAR, 예를 들어, 억제성 CAR 또는 BCMA 이외의 항원(예를 들어 AML 세포 상에서 발현되는 항원, 예를 들어 CD123, CLL-1, CD34, FLT3, 또는 폴레이트 수용체 베타; 또는 B 세포 상에서 발현되는 항원, 예를 들어 CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, FLT-3, ROR1, CD79b, CD179b, 또는 CD79a)에 특이적으로 결합하는 CAR을 암호화하는 2개 이상의 핵산 서열을 포함할 수 있다. 이러한 구현예에서, CAR을 암호화하는 2개 이상의 핵산 서열은 동일한 프레임 내 단일 핵산 분자에 의해 단일 폴리펩티드 쇄로서 암호화된다. 이러한 양태에서, 2개 이상의 CAR은, 예를 들어 하나 이상의 펩티드 절단 부위에 의해 분리될 수 있다. (예를 들어, 자가 절단 부위 또는 세포내 프로테아제의 기질). 펩티드 절단 부위의 예는 다음을 포함하고, 여기서, GSG 잔기는 선택적이다:

T2A: (GSG)EGRGSLLTCGDVEENPGP(서열번호 194)

P2A: (GSG)ATNFSLLKQAGDVEENPGP(서열번호 195)

E2A: (GSG)QCTNYALLKLAGDVESNPGP(서열번호 196)

F2A: (GSG)VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(서열번호 197)

[0432]

[0433] 세포 내로의 유전자의 도입 및 발현 방법은 당해 분야에 알려져 있다. 발현 벡터에 관하여, 벡터는 당해 분야의 임의의 방법에 의해 숙주 세포, 예를 들어 포유동물, 박테리아, 효모 또는 곤충 세포 내로 용이하게 도입될 수 있다. 예를 들어 발현 벡터는 물리적, 화학적, 또는 생물학적 수단에 의해 숙주 세포 내로 전달될 수 있다.

[0434] 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전법, 리포펙션, 입자 충격법, 미세주입법, 전기천공법 등을 포함한다. 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 생성하는 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1 -4, Cold Spring Harbor Press, Ny)] 참조. 숙주 세포 내로의 폴리뉴클레오티드의 도입을 위한 바람직한 방법은 인산칼슘 형질감염이다.

[0435] 숙주 세포 내로 관심 폴리뉴클레오티드를 도입하기 위한 생물학적 방법은 DNA 및 RNA 벡터의 사용을 포함한다. 바이러스 벡터, 및 특히 레트로바이러스 벡터는 유전자를 포유동물, 예를 들어 인간 세포 내로 삽입하기 위해 가장 널리 사용되는 방법이 되었다. 다른 바이러스 벡터는 렌티바이러스, 폭스바이러스, 단순 포진 바이러스 I, 아데노바이러스 및 아데노 관련 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,350,674호 및 미국 특허 제5,585,362호 참조.

[0436] 숙주 세포 내로 폴리뉴클레오티드를 도입하기 위한 화학적 수단은 콜로이드성 분산 시스템, 예컨대 거대분자 복합체, 나노캡슐, 미소구체, 비드, 및 수중유 에멀젼, 미셀, 혼합된 미셀, 및 리포솜을 비롯한 지질 기반 시스템을 포함한다. 시험관 내 및 생체 내에서 전달 비히클로서 사용하기 위한 예시적인 콜로이드성 시스템으로는 리

포솜(예를 들어 인공 막 소포)이 있다. 핵산의 현재 기술 상태의 표적화 전달, 예컨대 표적화 나노입자 또는 다른 적합한 마이크로미터 미만 크기의 전달 시스템을 사용한 폴리뉴클레오티드의 전달을 위한 다른 방법이 이용 가능하다.

[0437] 비 바이러스 전달 시스템이 이용되는 경우에, 예시적인 전달 비히클로는 리포솜이 있다. 지질 제형의 사용은 숙주 세포 내로의 핵산의 도입(시험관 내, 생체 외 또는 생체 내)을 위해 고려된다. 또 다른 양태에서, 핵산은 지질과 회합될 수 있다. 지질과 회합된 핵산은 리포솜의 수성 내부에 캡슐화되거나, 리포솜의 지질 이중층 내에 산재되거나, 리포솜 및 올리고뉴클레오티드 둘 다와 회합되는 연결 분자를 통해 리포솜에 부착되거나, 리포솜 내에 포획되거나, 리포솜과 복합체화되거나, 지질 함유 용액 중에 분산되거나, 지질과 혼합되거나, 지질과 조합되거나, 지질 내에 현탁액으로서 함유되거나, 미셀에 함유되거나 또는 이와 복합체화되거나, 또는 다르게는 지질과 회합될 수 있다. 지질, 지질/DNA 또는 지질/발현 벡터 회합 조성물은 용액 중의 임의의 특정한 구조에 한정되지 않는다. 예를 들어, 이들은 이중층 구조로 존재하거나, 미셀로 존재하거나, 또는 "붕괴된" 구조로 존재할 수 있다. 이들은 또한 단순히 용액 중에 산재되어서, 가능하게는 크기 또는 형상이 균일하지 않은 응집체를 형성할 수 있다. 지질은 자연 발생 또는 합성 지질일 수 있는 지방 물질이다. 예를 들어 지질은 세포질에서 자연 발생하는 지방 액적과, 장쇄 지방족 탄화수소 및 그들의 유도체, 예컨대 지방산, 알콜, 아민, 아미노 알콜, 및 알데히드를 함유하는 화합물의 부류를 포함한다.

[0438] 사용하기 적합한 지질은 상업적 공급처로부터 수득할 수 있다. 예를 들어 디미리스틸 포스파티딜콜린("DMPC")은 미국 미주리 주 세인트 루이스 소재의 Sigma로부터 수득할 수 있고; 디세틸 포스페이트("DCP")는 K & K Laboratories(미국 뉴욕주 플레인뷰)로부터 수득할 수 있고; 콜레스테롤("Chol")은 Calbiochem-Behring으로부터 수득할 수 있고; 디미리스틸 포스파티딜글리세롤("DMPG") 및 다른 지질은 Avanti Polar Lipids, Inc(미국 앨라배마 주 버밍엄)로부터 수득할 수 있다. 클로로포름 또는 클로로포름/메탄올 중 지질의 스톡 용액은 약 -20℃에서 보관될 수 있다. 클로로포름이 메탄올보다 더 용이하게 증발되기 때문에, 클로로포름이 유일한 용매로서 사용된다. "리포솜"은 둘러싸는 지질 이중층 또는 응집체의 생성에 의해 형성된 다양한 단일 및 다중라멜라 지질 비히클을 포괄하는 일반적 용어이다. 리포솜은 인지질 이중층 막 및 내부 수성 매질을 갖는 소포 구조를 갖는 것을 특징으로 할 수 있다. 다중라멜라 리포솜은 수성 매질에 의해 분리된 다중 지질 층을 갖는다. 다중라멜라 리포솜은 인지질이 과량의 수성 용액 중에 현탁될 경우에 자발적으로 형성된다. 지질 성분은 폐쇄된 구조의 형성 전에 자가-재배열을 겪고, 지질 이중층들 사이에 물 및 용해된 용질을 포획한다(문헌[Ghosh et al, 1991 Glycobiology 5: 505-10]) 그러나 정상 소포 구조와 상이한 용액 중 구조를 갖는 조성물도 포괄된다. 예를 들어 지질은 미셀 구조를 가정할 수 있거나 또는 단지 지질 분자의 불균일 응집체로서 존재할 수 있다. 또한, 리포펙타민-핵산 복합체가 고려된다.

[0439] 외인성 핵산을 숙주 세포 내로 도입하거나 또는 달리 세포를 본 발명의 억제제에 노출시키기 위해 사용된 방법과 상관없이, 숙주 세포에서 재조합 DNA 서열의 존재를 확인하기 위해 다양한 분석법을 수행할 수 있다. 이러한 분석법은, 예를 들어 당업자에게 잘 알려진 "분자 생물학적" 분석법, 예컨대 서던 및 노던 블롯팅, RT-PCR 및 PCR; 예를 들어 면역학적 수단(ELISA 및 웨스턴 블롯)에 의해 또는 본 발명의 범주 내에 포함되는 작용제를 확인하기 위해 본원에 기술된 분석법에 의해, 특정한 펩티드의 존재 또는 부재를 검출하는 것과 같은 "생화학적" 분석법을 포함한다.

[0440] 본 발명은 핵산 분자를 암호화하는 CAR을 포함하는 벡터를 추가로 제공한다. 일 양태에서, CAR 벡터는 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포 내로 바로 형질도입될 수 있다. 일 양태에서, 벡터는 클로닝 또는 발현 벡터, 예를 들어 하나 이상의 플라스미드(예를 들어 발현 플라스미드, 클로닝 벡터, 미니서클, 미니벡터, 이중 미세 염색체), 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 구축물을 포함하나 이들에 제한되지 않는 벡터이다. 일 양태에서, 벡터는 포유동물 T 세포 또는 NK 세포에서 CAR 구축물을 발현할 수 있다. 일 양태에서, 포유동물 T 세포는 인간 T 세포이다. 일 양태에서, 포유동물 T 세포는 인간 NK 세포이다.

[0441] **RNA 형질감염**

[0442] 시험관 내 전사된 RNA CAR을 생성하는 방법이 본원에 개시된다. 본 발명은 또한 세포를 직접 형질감염시킬 수 있는 CAR 암호화 RNA 구축물을 포함한다. 형질감염에 사용하기 위한 mRNA의 생성 방법은 특수 설계된 프라이머를 사용한 주형의 시험관 내 전사(IVT)에 이어서 폴리A 부가를 수반하여, 3' 및 5' 비번역 서열("UTR"), 5' 캡 및/또는 내부 리보솜 진입 부위(IRES), 발현될 핵산 및 전형적으로 50 내지 5000개 염기 길이인 폴리A 테일을 함유하는 구축물(서열번호 35)을 생성할 수 있다. 이렇게 생성된 RNA는 상이한 종류의 세포를 효율적으로 형질감염시킬 수 있다. 일 양태에서, 주형은 CAR에 대한 서열을 포함한다.

[0443] 일 양태에서, 항-BCMA CAR은 메신저 RNA(mRNA)에 의해 암호화된다. 일 양태에서, 항-BCMA CAR을 암호화하는 mRNA는 CAR 발현 세포(예를 들어 CART 세포 또는 CAR 발현 NK 세포)의 생성을 위해 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포 내로 도입된다.

[0444] 일부 구현예에서, 시험관 내 전사된 RNA CAR은 일시적 형질감염의 형태로서 세포에 도입될 수 있다. RNA는 중합효소 연쇄 반응(PCR)-생성 주형을 사용하여 시험관 내 전사에 의해 생성된다. 임의의 공급원으로부터의 관심 DNA는 적절한 프라이머 및 RNA 폴리머라아제를 사용하여 PCR에 의해 시험관 내 mRNA 합성을 위한 주형으로 직접 전환될 수 있다. DNA의 공급원은 예를 들어 게놈 DNA, 플라스미드 DNA, 파지 DNA, cDNA, 합성 DNA 서열 또는 임의의 다른 적절한 DNA 공급원일 수 있다. 시험관 내 전사를 위한 목적하는 주형은 본 발명의 CAR이다. 예를 들어 RNA CAR을 위한 주형은 항-종양 항체의 단일 쇄 가변 도메인을 포함하는 세포외 영역; 힌지 영역, 막관통 도메인(예를 들어 CD8a의 막관통 도메인); 및 예를 들어 CD3-제타의 신호전달 도메인 및 4-1BB의 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 영역을 포함한다.

[0445] 일부 구현예에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 오픈 리딩 프레임을 함유한다. DNA는 유기체의 게놈으로부터의 자연 발생 DNA 서열로부터 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, 핵산은 일부의 또는 모든 5' 및/또는 3' 비번역 영역(UTR)을 포함할 수 있다. 핵산은 엑손 및 인트론을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 인간 핵산 서열이다. 또 다른 구현예에서, PCR을 위해 사용되는 DNA는 5' 및 3' UTR을 포함하는 인간 핵산 서열이다. DNA는 대안적으로 자연 발생 유기체에서 정상적으로는 발현되지 않는 인공 DNA 서열일 수 있다. 예시적인 인공 DNA 서열로는 함께 라이게이션되어 융합 단백질을 암호화하는 오픈 리딩 프레임을 형성하는 유전자의 부분을 함유하는 것이 있다. 함께 라이게이션되는 DNA의 부분은 단일 유기체로부터 또는 1가지 초과의 유기체로부터 유래될 수 있다.

[0446] PCR은 형질감염을 위해 사용되는 mRNA의 시험관 내 전사를 위한 주형을 생성하기 위해 사용된다. PCR을 수행하는 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다. PCR에 사용하기 위한 프라이머는 PCR을 위한 주형으로서 사용될 DNA의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 갖도록 설계된다. 본 명세서에서 사용되는 "실질적으로 상보적인"은 프라이머 서열 내 염기의 대부분 또는 전부가 상보적이거나, 또는 하나 이상의 염기가 비 상보적이거나 미스매치된 뉴클레오티드의 서열을 지칭한다. 실질적으로 상보적인 서열은 PCR을 위해 사용되는 어닐링 조건에서 의도된 DNA 표적과 어닐링 또는 혼성화될 수 있다. 프라이머는 DNA 주형의 임의의 부분에 실질적으로 상보적이도록 설계될 수 있다. 예를 들어 프라이머는 5' 및 3' UTR을 포함하는, 세포에서 정상적으로 전사되는 핵산의 부분(오픈 리딩 프레임)을 증폭하도록 설계될 수 있다. 프라이머는 또한 특정한 관심 도메인을 암호화하는 핵산의 부분을 증폭하도록 설계될 수 있다. 일부 구현예에서, 프라이머는 5' 및 3' UTR의 전부 또는 일부를 포함하는 인간 cDNA의 암호화 영역을 증폭하도록 설계될 수 있다. PCR에 유용한 프라이머는 당해 분야에 잘 알려진 합성 방법에 의해 생성될 수 있다. "정방향 프라이머"는 증폭될 DNA 서열의 상류에 있는 DNA 주형 상의 뉴클레오티드에 실질적으로 상보적인 뉴클레오티드의 영역을 포함하는 프라이머이다. "상류"는 암호화 가닥과 관련하여 증폭될 DNA 서열에 대해 5' 위치를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. "역방향 프라이머"는 증폭될 DNA 서열의 하류에 있는 이중 가닥 DNA 주형에 실질적으로 상보적인 뉴클레오티드의 영역을 포함하는 프라이머이다. "하류"는 암호화 가닥과 관련하여 증폭될 DNA 서열에 대해 3' 위치를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다.

[0447] PCR에 유용한 임의의 DNA 폴리머라아제가 본 명세서에서 개시된 방법에서 사용될 수 있다. 시약 및 폴리머라아제는 수많은 공급처로부터 상업적으로 입수 가능하다.

[0448] 안정성 및/또는 번역 효율을 촉진하는 능력을 갖는 화학 구조도 사용될 수 있다. RNA는 바람직하게는 5' 및 3' UTR을 갖는다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 1 내지 3000개 뉴클레오티드 길이이다. 암호화 영역에 부가되는 5' 및 3' UTR 서열의 길이는 UTR의 상이한 영역에 어닐링하는 PCR용 프라이머의 설계를 포함하지만 이에 한정되지는 않는 상이한 방법에 의해 변경될 수 있다. 이러한 접근법을 사용하여, 당업자는 전사된 RNA의 형질감염 후에 최적 번역 효율을 달성하기 위해 필요한 5' 및 3' UTR 길이를 변형시킬 수 있다.

[0449] 5' 및 3' UTR은 관심 핵산에 대한 자연 발생, 내인성 5' 및 3' UTR일 수 있다. 대안적으로, 관심 핵산에 내인성이 아닌 UTR 서열은 UTR 서열을 정방향 및 역방향 프라이머 내로 혼입시킴으로써 또는 주형의 임의의 다른 변형에 의해 부가될 수 있다. 관심 핵산에 내인성이 아닌 UTR 서열의 사용은 RNA의 안정성 및/또는 번역 효율의 변형에 유용할 수 있다. 예를 들어 3' UTR 서열 내의 AU-풍부 요소가 mRNA의 안정성을 감소시킬 수 있음이 공지되어 있다. 따라서, 3' UTR은 당해 분야에 잘 알려진 UTR의 특성을 기초로 하여 전사되는 RNA의 안정성을 증가시키도록 선택되거나 설계될 수 있다.

[0450] 일부 구현예에서, 5' UTR은 내인성 핵산의 코작(Kozak) 서열을 함유할 수 있다. 대안적으로, 관심 핵산에 대해

내인성이 아닌 5' UTR이 위에 기술된 바와 같이 PCR에 의해 부가되는 경우에, 컨센서스 코작 서열은 5' UTR 서열의 부가에 의해 재설계될 수 있다. 코작 서열은 일부 RNA 전사체의 번역 효율을 증가시킬 수 있지만, 모든 RNA가 효율적인 번역을 가능하게 하기 위해 필요한 것으로 보이지는 않는다. 많은 mRNA에 대한 코작 서열에 대한 요건은 당해 분야에 공지되어 있다. 다른 구현예에서, 5' UTR은 RNA 게놈이 세포에서 안정적인 RNA 바이러스의 5' UTR일 수 있다. 다른 구현예에서, mRNA의 엑소뉴클레아제 분해를 지연시키기 위해 3' 또는 5' UTR에 다양한 뉴클레오티드 유사체가 사용될 수 있다.

[0451] 유전자 클로닝을 필요로 하지 않으면서 RNA를 DNA 주형으로부터 합성할 수 있기 위해, 전사 프로모터는 전사시킬 서열의 상류의 DNA 주형에 부착되어야 한다. RNA 폴리머라아제에 대한 프로모터로서 기능하는 서열이 정방향 프라이머의 5' 말단에 부가되는 경우에, RNA 폴리머라아제 프로모터는 전사되는 오픈 리딩 프레임의 상류의 PCR 생성물 내로 혼입된다. 하나의 바람직한 구현예에서, 프로모터는 본원의 다른 곳에 기술된 바와 같은 T7 폴리머라아제 프로모터이다. 다른 유용한 프로모터는 T3 및 SP6 RNA 폴리머라아제 프로모터를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. T7, T3 및 SP6 프로모터의 컨센서스 뉴클레오티드 서열은 당해 분야에 알려져 있다.

[0452] 바람직한 구현예에서, mRNA는 세포에서 리보솜 결합, 번역의 개시 및 mRNA의 안정성을 결정하는 5' 말단 상의 캡 및 3' 폴리(A) 테일 둘 다를 갖는다. 원형 DNA 주형, 예를 들어 플라스미드 DNA에서, RNA 폴리머라아제는 진핵 세포에서의 발현에 적합하지 않은 긴 콘카타머 생성물을 생성한다. 3' UTR의 말단에서 선형화된 플라스미드 DNA의 전사는 전사 후에 폴리아데닐화되는 경우에도 진핵 형질감염에 유효하지 않은 정상 크기의 mRNA를 초래한다.

[0453] 선형 DNA 주형 상에서, 파지 T7 RNA 폴리머라아제는 주형의 마지막 염기를 넘어 전사체의 3' 말단을 연장할 수 있다(문헌[Schenborn and Mierendorf, Nuc Acids Res., 13:6223-36 (1985)]; 문헌[Nacheva and Berzal-Herranz, Eur. J. Biochem., 270:1485-65 (2003)]).

[0454] 폴리A/T 스트레치의 DNA 주형 내로의 통상적인 통합 방법으로는 분자 클로닝이 있다. 그러나 플라스미드 DNA 내로 통합된 폴리A/T 서열은 플라스미드 불안정성을 유발할 수 있고, 이것은 박테리아 세포로부터 수득된 플라스미드 DNA 주형이 종종 결실 및 다른 이상에 의해 고도로 오염되는 이유이다. 이는 클로닝 절차를 어렵고 시간 소모적으로 만들 뿐만 아니라 종종 신뢰할 수 없게 만든다. 이러한 이유 때문에, 클로닝 없이 폴리A/T 3' 스트레치를 갖는 DNA 주형의 구축을 가능하게 하는 방법이 매우 바람직하다.

[0455] 전사 DNA 주형의 폴리A/T 분절은 100T 테일(서열번호 31)과 같은 폴리T 테일(크기는 50~5000T일 수 있음(서열번호 32))을 포함하는 역방향 프라이머를 사용해 PCR 중에 생성될 수 있거나, DNA 라이게이션 또는 시험관 내 재조합을 포함하나, 이에 한정되지 않는 임의의 다른 방법에 의해 PCR 후에 생성될 수 있다. 폴리(A) 테일은 또한 RNA에 안정성을 제공하고, 그들의 분해를 감소시킨다. 일반적으로, 폴리(A) 테일의 길이는 전사된 RNA의 안정성과 양의 상관관계가 있다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 테일은 100 내지 5000개의 아데노신(서열번호 33)이다.

[0456] RNA의 폴리(A) 테일은 폴리(A) 폴리머라아제, 예컨대 E. 콜라이 폴리A 폴리머라아제(E-PAP)를 사용하여 시험관 내 전사 후에 추가로 연장될 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 테일의 길이를 100개 뉴클레오티드에서 300 내지 400개 뉴클레오티드(서열번호 34)로 증가시키면 RNA의 번역 효율은 약 2배 증가된다. 추가로, 상이한 화학기의 3' 말단에의 부착은 mRNA 안정성을 증가시킬 수 있다. 이러한 부착은 변형/인공 뉴클레오티드, 압타머 및 다른 화합물을 함유할 수 있다. 예를 들어 ATP 유사체는 폴리(A) 폴리머라아제를 사용하여 폴리(A) 테일 내로 혼입될 수 있다. ATP 유사체는 RNA의 안정성을 추가로 증가시킬 수 있다.

[0457] 5' 캡이 또한 RNA 분자에 안정성을 제공한다. 바람직한 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생성된 RNA는 5' 캡을 포함한다. 5' 캡은 당해 분야에 공지되고 본원에 설명된 기술을 이용하여 제공된다(문헌[Cougot, et al., Trends in Biochem. Sci., 29:436-444 (2001)]; 문헌[Stepinski, et al., RNA, 7:1468-95 (2001)]; 문헌[Elango, et al., Biochim. Biophys. Res. Commun., 330:958-966 (2005)]).

[0458] 본원에 개시된 방법에 의해 생성된 RNA는 또한 내부 리보솜 진입 부위(IRES) 서열을 함유할 수 있다. IRES 서열은 mRNA로의 캡 비의존성 리보솜 결합을 개시하고 번역의 개시를 용이하게 하는 임의의 바이러스, 염색체 또는 인공적 설계 서열일 수 있다. 세포 투과성 및 생존능을 촉진하는 인자, 예컨대 당, 펩티드, 지질, 단백질, 항산화제, 및 계면활성제를 함유할 수 있는, 세포 전기천공에 적합한 임의의 용질이 포함될 수 있다.

[0459] RNA는 여러 상이한 방법, 예를 들어, 전기천공법(Amaxa Nucleofector-II(Amaxa Biosystems, 독일 쾰른 소재)), (ECM 830(BTX)(Harvard Instruments, 미국 매사추세츠주 보스턴 소재) 또는 Gene Pulser II(BioRad, 미국 콜로라도주 덴버 소재), Multiporator(Eppendort, 독일 함부르크 소재), 리포펙션을 이용한 양이온성 리포솜 매개

형질감염, 중합체 캡슐화, 펩티드 매개 형질감염, 또는 "유전자총"과 같은 생물학적 입자 전달 시스템을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 상업적으로 이용 가능한 방법 중 임의의 방법을 이용해 표적 세포에 도입될 수 있다(예를 들어, 문헌[Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001)] 참조).

[0460] **비 바이러스 전달 방법**

[0461] 일부 양태에서, 본 명세서에서 기술된 CAR을 암호화하는 핵산을 세포 또는 조직 또는 대상체 내로 전달하는 데 비 바이러스 방법이 사용될 수 있다.

[0462] 일부 구현예에서, 비 바이러스 방법은 트랜스포손(전위 가능 요소로도 불림)의 사용을 포함한다. 일부 구현예에서, 트랜스포손은 게놈 내 위치에 그 자체를 삽입할 수 있는 DNA 조각, 예를 들어 자기-복제 및 이의 카피의 게놈 내로의 삽입이 가능한 DNA 조각, 또는 보다 긴 핵산으로부터 스플라이싱되고, 게놈 내의 또 다른 위치 내로 삽입될 수 있는 DNA 조각이다. 예를 들어 트랜스포손은 전위를 위한 유전자의 측면에 있는 역전 반복체로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0463] 트랜스포손을 이용한 예시적인 핵산 전달 방법은 슬리핑 뷰티 트랜스포손 시스템(SBTS) 및 피기백(PB) 트랜스포손 시스템을 포함한다. 예를 들어 문헌[Aronovich et al. Hum. Mol. Genet. 20.R1(2011):R14-20]; 문헌[Singh et al. Cancer Res. 15(2008):2961-2971]; 문헌[Huang et al. Mol. Ther. 16(2008):580-589]; 문헌[Grabundzija et al. Mol. Ther. 18(2010):1200-1209]; 문헌[Kebriaei et al. Blood. 122.21(2013):166]; 문헌[Williams. Molecular Therapy 16.9(2008):1515-16]; 문헌[Bell et al. Nat. Protoc. 2.12(2007):3153-65]; 및 문헌[Ding et al. Cell. 122.3(2005):473-83]을 참조하는데, 이들 전부는 본원에 참조로 포함된다.

[0464] SBTS는 다음의 2가지 성분을 포함한다: 1) 이식유전자를 함유하는 트랜스포손 및 2) 트랜스포사아제 효소의 공급원. 트랜스포사아제는 트랜스포손을 운반 플라스미드(또는 다른 공여자 DNA)로부터 표적 DNA, 예컨대 숙주 세포 염색체/게놈으로 전위시킬 수 있다. 예를 들어 트랜스포사아제는 운반 플라스미드/공여자 DNA에 결합하고, 플라스미드로부터 트랜스포손(이식유전자(들) 포함)을 절단하고, 이를 숙주 세포의 게놈 내로 삽입한다. 예를 들어 상기 문헌[Aronovich et al.] *을 참조한다.*

[0465] 예시적인 트랜스포손은 pT2-기반 트랜스포손을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Grabundzija et al. Nucleic Acids Res. 41.3(2013):1829-47]; 및 문헌[Singh et al. Cancer Res. 68.8(2008):2961-2971]을 참조하는데, 이들 전부는 본원에 참조로 포함된다. 예시적인 트랜스포사아제는 Tc1/마리너-유형 트랜스포사아제, 예를 들어 SB10 트랜스포사아제 또는 SB11 트랜스포사아제(예를 들어 사이토메갈로바이러스 프로모터로부터 발현될 수 있는 과다활성 트랜스포사아제)를 포함한다. 예를 들어, 문헌[Aronovich et al.]; 문헌[Kebriaei et al.]; 및 문헌[Grabundzija et al.]을 참조하는데, 이들 전부는 본원에 참조로 포함된다.

[0466] SBTS의 사용은 이식유전자, 예를 들어 본원에 기술된 CAR을 암호화하는 핵산의 효율적인 통합 및 발현을 허용한다. 예를 들어 트랜스포손 시스템, 예컨대 SBTS를 사용하여 본원에 기술된 CAR을 안정적으로 발현하는 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포를 생성하는 방법이 본원에 제공된다.

[0467] 본원에 기술된 방법에 따라, 일부 구현예에서, SBTS 성분을 함유하는 하나 이상의 핵산, 예를 들어 플라스미드가 세포(예를 들어 T 또는 NK 세포)에게 전달된다. 예를 들어 핵산(들)은 핵산(예를 들어 플라스미드 DNA) 전달의 표준 방법, 예를 들어 본원에 기술된 방법, 예를 들어 전기천공, 형질감염 또는 리포펙션에 의해 전달된다. 일부 구현예에서, 핵산은 이식유전자, 예를 들어 본원에 기술된 CAR을 암호화하는 핵산을 포함하는 트랜스포손을 함유한다. 일부 구현예에서, 핵산은 이식유전자(예를 들어 본원에 기술된 CAR을 암호화하는 핵산)뿐만 아니라 트랜스포사아제 효소를 암호화하는 핵산 서열도 포함하는 트랜스포손을 함유한다. 다른 구현예에서, 2가지의 핵산을 갖는 시스템, 예를 들어 이중 플라스미드 시스템이 제공되며, 예를 들어 제1 플라스미드는 이식유전자를 포함하는 트랜스포손을 함유하고 제2 플라스미드는 트랜스포사아제 효소를 암호화하는 핵산 서열을 함유한다. 예를 들어 제1 및 제2 핵산은 숙주 세포 내로 공동 전달된다.

[0468] 일부 구현예에서, SBTS를 사용한 유전자 삽입 및 뉴클레아제(예를 들어 징크 핑거 뉴클레아제(ZFN), 전사 활성제-유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), CRISPR/Cas 시스템, 또는 조작 메가뉴클레아제 재조작된 호밍(homing) 엔도뉴클레아제)를 사용한 유전자 편집의 조합을 사용하는 것에 의해, 본원에 기술된 CAR을 발현하는 세포, 예를 들어 T 또는 NK 세포가 생성된다.

[0469] 일부 구현예에서, 비 바이러스 전달 방법의 사용은 세포, 예를 들어 T 또는 NK 세포의 재프로그래밍 및 대상체 내로의 세포의 직접적인 주입을 허용한다. 비 바이러스 벡터의 장점은 환자 집단을 충족시키는데 필요한 충분한 양을 생성하는 것의 용이성 및 상대적으로 낮은 비용, 보관하는 동안의 안정성, 및 면역원성의 결여를 포함하지

만, 이에 한정되지 않는다.

[0470] **세포의 공급원**

[0471] 확장 및 유전자 변형 이전에, 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)의 공급원을 대상체로부터 수득한다. 용어 "대상체"는 면역 반응이 유도될 수 있는 살아 있는 유기체(예를 들어 포유동물)를 포함하는 것으로 의도된다. 대상체의 예에는 인간, 개, 고양이, 마우스, 래트 및 이의 유전자 이식 종을 포함한다. T 세포는 말초 혈액 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉막 삼출액, 비장 조직, 및 종양을 비롯한 수많은 공급원으로부터 수득될 수 있다.

[0472] 본 발명의 특정 양태에서, 당해 분야에서 이용 가능한 임의의 수의 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)가 사용될 수 있다. 본 발명의 특정 양태에서, T 세포는 당업자에게 알려진 임의의 수의 기술, 예컨대, Ficoll™ 분리를 이용하여 대상체로부터 채취된 혈액의 단위로부터 얻을 수 있다. 바람직한 일 양태에서, 개체의 순환 혈액으로부터의 세포는 분리반출술에 의해 수득된다. 분리반출술 생성물은 전형적으로 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포를 포함한 림프구, 다른 유핵 백혈구, 적혈구, 및 혈소판을 함유한다. 일 양태에서, 분리반출술에 의해 수집된 세포를 세척하여, 혈장 분획을 제거하고, 후속 처리 단계를 위해 세포를 적절한 완충제 또는 배지에 두기 위해 세척할 수 있다. 본 발명의 일 양태에서, 세포를 인산염 완충 염수(PBS)로 세척한다. 대안적인 양태에서, 세척 용액은 칼슘이 결여되어 있고, 마그네슘이 결여될 수 있거나 또는 전부는 아니지만 많은 2가 양이온이 결여될 수 있다.

[0473] 칼슘의 부재 하의 초기 활성화 단계는 확대된 활성화를 초래할 수 있다. 당업자가 용이하게 인식하는 바와 같이, 세척 단계는 당업자에게 공지된 방법에 의해, 예컨대 반자동화 "유통식" 원심분리기(예를 들어 코브(Cobe) 2991 세포 처리기, 백스터 사이토메이트(Baxter CytoMate), 또는 헤모네틱스 셀 세이버 5(Haemonetics Cell Saver 5))를 제조사의 설명에 따라 사용하는 것에 의해 달성할 수 있다. 세척 후에, 세포를 다양한 생체적합성 완충제, 예컨대 Ca-무함유, Mg-무함유 PBS, 플라스마라이트 A(PlasmaLyte A), 또는 완충제를 포함하거나 포함하지 않는 다른 식염수 중에 재현탁시킬 수 있다. 대안적으로, 분리반출술 샘플의 바람직하지 않은 성분을 제거하고, 세포를 배양 배지 내에 직접 재현탁시킬 수 있다.

[0474] 본 출원의 방법은 5% 이하(예를 들어 2%)의 인간 AB 혈청을 포함하는 배양 배지 조건을 활용할 수 있고, 공지의 배양 배지 조건 및 조성, 예를 들어 문헌[Smith *et al.*, "Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement" *Clinical & Translational Immunology* (2015) 4, e31; doi:10.1038/cti.2014.31]에 기술된 것들을 이용할 수 있는 것으로 이해된다.

[0475] 일 양태에서, T 세포는 적혈구를 용해시키고, 예를 들어 퍼콜(PERCOLL)™ 구배를 통한 원심분리에 의해 또는 역류 원심 분리 용리에 의해 단핵구를 고갈시킴으로써 말초 혈액 림프구로부터 단리된다. T 세포의 특정 하위집단, 예컨대 CD3+, CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+ 및 CD45RO+T 세포는 양성 또는 음성 선택 기법에 의해 추가로 단리될 수 있다. 예를 들어 일 양태에서, T 세포는 항-CD3/항-CD28(예를 들어 3x28) 접합된 비드, 예컨대 DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T와의, 목적하는 T 세포의 양성 선택에 충분한 기간 동안의 인큐베이션에 의해 단리된다. 일 양태에서, 상기 기간은 약 30분이다. 추가의 양태에서, 상기 기간은 30분 내지 36시간 이상의 범위 및 그 사이의 모든 정수이다. 추가의 양태에서, 상기 기간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6시간이다. 또 다른 바람직한 양태에서, 상기 기간은 10 내지 24시간이다. 일 양태에서, 인큐베이션 기간은 24시간이다. 다른 세포 유형에 비하여 T 세포가 거의 없는 임의의 상황에서, 예컨대 종양 조직으로부터 또는 면역손상 개체로부터 종양 침윤 림프구(TIL)를 단리하는 데 있어서, T 세포를 단리하기 위하여 보다 긴 인큐베이션 시간이 사용될 수 있다. 또한, 보다 긴 인큐베이션 시간의 사용은 CD8+ T 세포의 포획 효율을 증가시킬 수 있다. 따라서, 단순히 시간을 단축하거나 연장함으로써 T 세포가 CD3/CD28 비드에 결합하도록 하고/거나, 비드 대 T 세포의 비를 증가시키거나 감소시킴으로써(본원에 추가로 기술되는 바와 같음), T 세포의 하위집단을 우선적으로 배양 개시 시에 또는 그 과정 동안의 다른 시점에 그에 대하여 또는 그에 반하여 선택할 수 있다. 추가로, 비드 또는 다른 표면 상의 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체의 비를 증가시키거나 감소시킴으로써, T 세포의 하위집단을 우선적으로 배양 개시 시에 또는 다른 원하는 시점에 그에 대하여 또는 그에 반하여 선택할 수 있다. 숙련자는 또한 다수의 선택 회차가 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 것을 인식할 것이다. 특정 구현예에서, 선택 절차를 수행하고 활성화 및 확장 과정에서 "선택되지 않은" 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. "선택되지 않은" 세포는 추가 선택 절차를 거칠 수도 있다.

[0476] 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 농축은 음성으로 선택된 세포에 고유한 표면 마커에 대한 항체의 조합으로 달성될 수 있다. 하나의 방법으로는 음성 선택된 세포 상에 존재하는 세포 표면 마커에 대해 유도된 단클론 항체

의 칵테일을 사용하는 유세포 분석법 또는 음성 자기 면역부착을 통한 세포 분류 및/또는 선택이 있다. 예를 들어 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 농축하기 위해, 단클론 항체 칵테일은 전형적으로 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 특정 양태에서, 전형적으로 CD4+, CD25+, CD62Lhi, GITR+ 및 FoxP3+를 발현하는 조절 T 세포를 농축하거나 이를 양성 선택하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로, 특정 양태에서, T 조절 세포는 항-C25 접합된 비드 또는 다른 유사한 선택 방법에 의해 고갈된다.

[0477] 본원에 기술된 방법은 예를 들어 본원에 기술된, 예를 들어 음성 선택 기술을 사용한, 예를 들어 T 조절 세포-고갈 집단, CD25+ 고갈 세포인 면역 이펙터 세포의 특정 하위집단, 예를 들어 T 세포의 선택을 포함할 수 있다. 바람직하게는, T 조절 고갈 세포의 집단은 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 미만의 CD25+ 세포를 함유한다.

[0478] 일부 구현예에서, T 조절 세포, 예를 들어, CD25+ T 세포는 항-CD25 항체, 또는 이의 단편, 또는 CD25-결합 리간드, IL-2를 사용해 집단으로부터 제거된다. 일부 구현예에서, 항-CD25 항체, 또는 이의 단편, 또는 CD25-결합 리간드는 기질, 예를 들어, 비드에 접합되거나, 달리 기질, 예를 들어, 비드에 코팅된다. 일부 구현예에서, 항-CD25 항체 또는 이의 단편은 본원에 기술된 바와 같은 기질에 접합된다.

[0479] 일부 구현예에서, T 조절 세포, 예를 들어, CD25+ T 세포는 Miltenyi™의 CD25 고갈 시약을 사용하여 집단으로부터 제거된다. 일부 구현예에서, 세포 대 CD25 고갈 시약의 비는 1e7개 세포 대 20 uL, 또는 1e7개 세포 대 15 uL, 또는 1e7개 세포 대 10 uL, 또는 1e7개 세포 대 5 uL, 또는 1e7개 세포 대 2.5 uL, 또는 1e7개 세포 대 1.25 uL이다. 일부 구현예에서, 예를 들어 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 고갈을 위하여, 5억 개 초과의 세포/ml가 사용된다. 추가의 양태에서, 6억, 7억, 8억 또는 9억 개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다.

[0480] 일부 구현예에서, 고갈될 면역 이펙터 세포의 집단은 약 6×10^9개의 CD25+ T 세포를 포함한다. 다른 양태에서, 고갈될 면역 이펙터 세포의 집단은 약 1×10^9 내지 $1x\ 10^{10}$개의 CD25+ T 세포, 및 그 사이의 임의의 정수값을 포함한다. 일부 구현예에서, 생성된 T 조절 고갈 세포 집단은 2×10^9개 이하의 T 조절 세포, 예를 들어, CD25+ 세포(예를 들어, 1×10^9, $5 \times 10^{8,}$ 1×10^8, 5×10^7, 1×10^7개 이하의 CD25+ 세포)를 갖는다.

[0481] 일부 구현예에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포는 고갈 튜빙 세트, 예컨대, 예를 들어 튜빙 162-01이 구비된 CliniMAC 시스템을 사용하여 집단으로부터 제거된다. 일부 구현예에서, CliniMAC 시스템은 고갈 세팅, 예컨대, 예를 들어 DEPLETION2.1에서 진행된다.

[0482] 특정 이론에 구애되고자 함이 없이, 분리반출 전에 또는 CAR 발현 세포 생성물의 제조 중에 대상체에서 면역 세포의 음성 조정자의 수준을 감소시키면(예를 들어, 원치 않는 면역세포(예를 들어 T_{REG} 세포)의 수를 감소시키면) 대상체의 재발 위험을 줄일 수 있다. 예를 들어, T_{REG} 세포를 고갈시키는 방법은 당해 분야에 공지되어 있다. T_{REG} 세포를 감소시키는 방법은 시클로포스파미드, 항-GITR 항체(본원에 기술된 항-GITR 항체), CD25-고갈, 및 이들의 조합을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0483] 일부 구현예에서, 제조 방법은 CAR 발현 세포의 제조 전에 T_{REG} 세포의 수를 감소(예를 들어, 고갈)시키는 단계를 포함한다. 예를 들어, 제조 방법은, 예를 들어 CAR 발현 세포(예를 들어, T 세포, NK 세포) 산물을 제조하기 전에 TREG 세포를 고갈시키기 위해, 샘플(예를 들어, 분리반출 샘플)을 항-GITR 항체 및/또는 항-CD25 항체(또는 이의 단편, 또는 CD25-결합 리간드)와 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0484] 일 구현예에서, CAR 발현 세포 생성물 제조를 위한 세포의 수집 전에 T_{REG} 세포를 감소시키는 하나 이상의 요법으로 대상체를 사전 처치함으로써, CAR 발현 세포 처치에 대한 대상체 재발 위험이 감소된다. 일 구현예에서, TREG 세포를 감소시키는 방법은 시클로포스파미드, 항-GITR 항체, CD25-고갈, 또는 이들의 조합 중 하나 이상을 대상체에 투여하는 것을 포함한다. 시클로포스파미드, 항-GITR 항체, CD25-고갈, 또는 이들의 조합 중 하나 이상의 투여는 CAR 발현 세포 생성물의 주입 전, 중 또는 후에 일어날 수 있다.

[0485] 일 구현예에서, CAR 발현 세포 생성물 제조를 위한 세포의 수집 전에 시클로포스파미드로 대상체를 사전 처치함으로써, CAR 발현 세포 처치에 대한 대상체 재발 위험이 감소된다. 일 구현예에서, CAR 발현 세포 생성물 제조를 위한 세포의 수집 전에 항-GITR 항체로 대상체를 사전 처치함으로써, CAR 발현 세포 처치에 대한 대상체 재발 위험이 감소된다.

[0486] 일부 구현예에서, 제거될 세포의 집단은 조절 T 세포 또는 종양 세포 중 어느 것도 아니며, CART 세포의 확장 및/또는 기능에 달리 부정적인 영향을 미치는 세포, 예를 들어 CD14, CD11b, CD33, CD15, 또는 잠재적으로 면역 억제 세포에 의해 발현되는 다른 마커를 발현하는 세포이다. 일부 구현예에서, 이러한 세포는 조절 T 세포 및/또는 종양 세포와 동시에, 또는 상기 고갈 이후에, 또는 또 다른 순서로 제거되는 것이 고려된다.

[0487] 본원에 기술된 방법은 1개 초과의 선택 단계, 예를 들어 1개 초과의 고갈 단계를 포함할 수 있다. 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 농축은, 예를 들어 음성 선택된 세포에 고유한 표면 마커에 대해 유도된 항체의 조합을 이용하여 달성될 수 있다. 하나의 방법으로는 음성 선택된 세포 상에 존재하는 세포 표면 마커에 대해 유도된 단클론 항체의 칵테일을 사용하는 유세포 분석법 또는 음성 자기 면역부착을 통한 세포 분류 및/또는 선택이 있다. 예를 들어 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 농축하기 위해, 단클론 항체 칵테일은 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함할 수 있다.

[0488] 본원에 기술된 방법은 종양 항원, 예를 들어 CD25를 포함하지 않는 종양 항원, 예를 들어 CD19, CD30, CD38, CD123, CD20, CD14 또는 CD11b를 발현하는 세포를 집단으로부터 제거하여, 그에 의해 CAR, 예를 들어 본원에 기술된 CAR의 발현에 적합한 T 조절 고갈, 예를 들어 CD25+ 고갈 및 종양 항원 고갈 세포의 집단을 제공하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 종양 항원 발현 세포는 T 조절, 예를 들어 CD25+ 세포와 동시에 제거된다. 예를 들어, 항-CD25 항체, 또는 이의 단편, 및 항-종양 항원 항체, 또는 이의 단편은 세포를 제거하는 데 사용될 수 있는 동일한 기질(예를 들어, 비드)에 부착될 수 있거나, 또는 항-CD25 항체, 또는 이의 단편, 또는 항-종양 항원 항체, 또는 이의 단편은 별개의 비드에 부착될 수 있고, 그 비드의 혼합물이 세포를 제거하는 데 사용될 수 있다. 다른 구현예에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포의 제거 및 종양 항원 발현 세포의 제거는 순차적이고, 예를 들어 어느 하나의 순서로 일어날 수 있다.

[0489] 또한, 체크포인트 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 체크포인트 억제제를 발현하는 세포, 예를 들어 PD1+ 세포, LAG3+ 세포, 및 TIM3+ 세포 중 하나 이상을 집단으로부터 제거하여, 그에 의해 T 조절 고갈, 예를 들어 CD25+ 고갈 세포 및 체크포인트 억제제 고갈 세포, 예를 들어 PD1+, LAG3+ 및/또는 TIM3+ 고갈 세포의 집단을 제공하는 것을 포함하는 방법이 제공된다. 예시적인 체크포인트 억제제는 PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGF 베타를 포함한다. 구현예에서, 체크포인트 억제제는 PD1 또는 PD-L1이다. 일부 구현예에서, 체크포인트 억제제 발현 세포는 T 조절, 예를 들어 CD25+ 세포와 동시에 제거된다. 예를 들어 항-CD25 항체 또는 이의 단편, 및 항-체크포인트 억제제 항체 또는 이의 단편은 동일한 비드에 부착될 수 있고, 이는 세포를 제거하는 데 사용될 수 있거나, 또는 항-CD25 항체 또는 이의 단편, 및 항-체크포인트 억제제 항체 또는 이의 단편은 개별 비드에 부착될 수 있으며, 이의 혼합물은 세포를 제거하는 데 사용될 수 있다. 다른 구현예에서, T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ 세포의 제거 및 체크포인트 억제제 발현 세포의 제거는 순차적이고, 예를 들어 어느 하나의 순서로 일어날 수 있다.

[0490] 일부 구현예에서, IFN-γ, TNFα, IL-17A, IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, IL-10, IL-13, 그랜자임 B 및 퍼포린, 또는 다른 적절한 분자, 예를 들어 다른 사이토카인 중 하나 이상을 발현하는 T 세포 집단이 선택될 수 있다. 세포 발현에 대한 스크리닝 방법은, 예를 들어 국제 공개 제2013/126712호에 기술된 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0491] 양성 또는 음성 선택에 의한 세포의 원하는 집단의 단리를 위해, 세포의 농도 및 표면(예를 들어 입자, 예컨대 비드)은 달라질 수 있다. 특정 양태에서, 세포 및 비드의 최대 접촉을 보장하기 위해 비드 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는(예를 들어 세포의 농도를 증가시키는) 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어 일 양태에서, 20억 개 세포/ml의 농도가 사용된다. 일 양태에서, 10억 개 세포/ml의 농도가 사용된다. 추가의 양태에서, 1억 개 세포/ml 초과가 사용된다. 추가의 양태에서, 1000만, 1500만, 2000만, 2500만, 3000만, 3500만, 4000만, 4500만, 또는 5000만 개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가의 일 양태에서 7500만, 8000만, 8500만, 9000만, 9500만, 또는 1억 개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가의 양태에서, 1억 2500만 또는 1억 5000만 개 세포/ml의 농도가 사용될 수 있다. 높은 농도의 사용은 증가된 세포 수율, 세포 활성화, 및 세포 확장을 발생시킬 수 있다. 또한, 높은 세포 농도의 사용은 관심 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포, 예컨대 CD28-음성 T 세포의, 또는 많은 종양 세포가 존재하는 샘플(예를 들어 백혈병 혈액, 종양 조직 등)로부터의 보다 효율적인 포획을 가능하게 한다. 이러한 세포의 집단은 치료 가치를 가질 수 있고, 수득하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들어 높은 농도의 세포를 사용하는 것은, 정상적으로는 보다 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포

의 보다 효율적인 선택을 가능하게 한다.

[0492] 관련 양태에서, 보다 낮은 농도의 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. T 세포 및 표면(예를 들어 입자, 예컨대 비드)의 혼합물을 유의하게 희석시킴으로써, 입자와 세포 사이에 상호작용이 최소화된다. 이것은 입자에 결합되는 다량의 원하는 항원을 발현하는 세포를 선택한다. 예를 들어 CD4+ T 세포는 희석 농도에서 보다 높은 수준의 CD28을 발현하고 CD8+ T 세포보다 더 효율적으로 포획된다. 일 양태에서, 사용된 세포의 농도는 5 x 10e6개/ml이다. 다른 양태에서, 사용된 농도는 약 1 x 10^5개/ml 내지 1 x 10^6개/ml, 및 그 사이의 임의의 정수 값일 수 있다.

[0493] 다른 양태에서, 세포를 2 내지 10℃ 또는 실온에서 다양한 속도로 다양한 길이의 시간 동안 회전기 상에서 인큐베이션시킬 수 있다.

[0494] 자극을 위한 T 세포는 또한 세척 단계 이후에 냉동시킬 수 있다. 이론에 구애되고자 함이 없이, 냉동 및 후속 해동 단계는 세포 집단에서 과립구 및 어느 정도까지의 단핵구를 제거함으로써 보다 균일한 생성물을 제공한다. 혈장 및 혈소판을 제거하는 세척 단계 후에, 세포를 냉동 용액 중에 현탁시킬 수 있다. 많은 냉동 용액 및 파라미터가 당해 분야에 공지되어 있고 이러한 맥락에서 유용할 것이지만, 한 방법은 20%의 DMSO 및 8%의 인간 혈청 알부민을 함유하는 PBS, 또는 10%의 덱스트란 40 및 5%의 덱스트로스, 20%의 인간 혈청 알부민 및 7.5%의 DMSO, 또는 31.25%의 플라스마라이트(Plasmalyte)-A, 31.25%의 덱스트로스 5%, 0.45%의 NaCl, 10%의 덱스트란 40 및 5%의 덱스트로스, 20%의 인간 혈청 알부민, 및 7.5%의 DMSO, 또는 예를 들어 헤스판(Hespan) 및 플라스마라이트 A를 함유하는 다른 적합한 세포 냉동 매질을 함유하는 배양 배지를 사용하는 것을 수반하고, 이어서, 세포를 1분당 1℃의 속도로 -80℃까지 냉동시키고, 액체 질소 저장 탱크의 증기 상에서 보관한다. 다른 제어된 냉동 방법뿐만 아니라 -20℃에서의 또는 액체 질소에서의 비제어된 즉각적인 냉동이 사용될 수 있다.

[0495] 특정 양태에서, 동결보존된 세포를 본원에 기술된 바와 같이 해동 및 세척하고, 1시간 동안 실온에서 휴지되도록 한 후, 본 발명의 방법을 사용하여 활성화시킨다.

[0496] 또한, 본 발명과 관련하여 본원에 기술된 바와 같은 확장된 세포가 필요할 수 있을 때 이전의 기간에 대상체로부터 혈액 샘플 또는 분리반출술 생성물을 수집하는 것이 고려된다. 이와 같이, 확장될 세포의 공급원을 필요한 임의의 시점에 수집할 수 있고, 면역 이펙터 세포, 예를 들어, T 세포 또는 NK 세포와 같은 목적 세포를 단리하고, 본원에 기술된 것과 같이 세포 요법, 예를 들어, T 세포 요법으로부터 이익을 얻을 임의의 수의 질환 또는 병태에 대한 세포 요법, 예를 들어, T 세포 요법에 추후 사용하기 위해 냉동시킨다. 일 양태에서, 혈액 샘플 또는 분리반출술을 일반적으로 건강한 대상체로부터 채취한다. 특정 양태에서, 혈액 샘플 또는 분리반출술을 질환이 발생할 위험이 있지만 아직 질환이 발생하지 않은 일반적으로 건강한 대상체로부터 채취하고, 관심 세포를 단리하고, 나중의 사용을 위해 냉동시킨다. 특정 양태에서, 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)를 확장시키고, 냉동시키고, 나중에 사용할 수 있다. 특정 양태에서, 샘플은 본 명세서에서 기술된 바와 같은 특정 질환의 진단 직후에, 그러나 임의의 치료 이전에 환자로부터 수집된다. 추가 양태에서, 세포는 작용제, 예컨대 나탈리주맙(natalizumab), 에팔리주맙(efalizumab), 항바이러스제, 화학요법, 방사선, 면역억제제, 예컨대 시클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 미코페놀레이트, 및 FK506, 항체, 또는 다른 면역제거제, 예컨대 CAMPATH, 항-CD3 항체, 시톡산, 플루다라빈, 시클로스포린, FK506, 라파마이신, 미코페놀산, 스테로이드, FR901228, 및 방사선조사를 이용한 치료를 포함하지만 이에 한정되지는 않는 임의의 수의 관련 치료 양식 이전에 대상체로부터의 혈액 샘플 또는 분리반출술로부터 단리된다.

[0497] 본 발명의 추가의 양태에서, T 세포는 기능성 T 세포를 사용한 대상체의 치료 직후에 환자로부터 수득된다. 이와 관련하여, 특정 암 치료, 특히 면역계를 손상시키는 약물을 사용한 치료 후, 환자가 치료로부터 정상적으로 회복 중인 기간 동안의 치료 직후에, 수득된 T 세포의 품질은 생체 외에서 확장되는 그의 능력을 위하여 최적이거나 개선될 수 있는 것으로 관찰되었다. 마찬가지로, 본원에 기술된 방법을 사용한 생체 외 조작 후에, 이들 세포는 증진된 생착 및 생체 내 확장을 위한 바람직한 상태로 존재할 수 있다. 따라서, 이러한 회복기 동안 T 세포, 수지상 세포, 또는 조혈 계통의 다른 세포를 포함하는 혈액 세포를 수집하는 것이 본 발명의 맥락 내에서 고려된다. 추가로, 특정 양태에서, 특히 요법 후의 규정된 시간 윈도우 동안 특정 세포 유형의 재증식, 재순환, 재생, 및/또는 확장이 유리한 조건을 대상체에서 생성하기 위해 동원(예를 들어 GM-CSF를 사용한 동원) 및 컨디셔닝 요법이 사용될 수 있다. 예시적인 세포 유형은 T 세포, B 세포, 수지상 세포, 및 면역계의 다른 세포를 포함한다.

[0498] 일부 구현예에서, CAR 분자, 예를 들어 본원에 기술된 CAR 분자를 발현하는 면역 이펙터 세포는 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제를 제공받은 대상체로부터 수득된다. 일 구현예에서, CAR을 발현하도록 조작될 면역 이펙

터 세포, 예를 들어 T 세포의 집단은 대상체 내의 또는 대상체로부터 수확된 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수준, 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비가 적어도 일시적으로 증가되도록 낮은, 면역 증진 용량의 mTOR 억제제의 충분한 투약 후에 또는 충분한 시간 후에 수확된다.

[0499] 다른 구현예에서, CAR을 발현하도록 조작되었거나 또는 조작될 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 집단은 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 수를 증가시키거나 또는 PD1 음성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포/PD1 양성 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포의 비를 증가시키는 양의 mTOR 억제제와의 접촉에 의해 생체 외에서 처리될 수 있다.

[0500] 일부 구현예에서, T 세포 집단은 디아글리세롤 키나제(DGK)-결함성이다. DGK-결함 세포는 DGK RNA 또는 단백질을 발현하지 않거나 또는 감소되거나 억제된 DGK 활성을 갖는 세포를 포함한다. DGK-결함 세포는 유전적 접근법에 의해, 예를 들어 RNA 간섭제, 예를 들어 siRNA, shRNA, miRNA를 투여하여 DGK 발현을 감소시키거나 방지함으로써 생성될 수 있다. 대안적으로, DGK-결함 세포는 본원에 기술된 DGK 억제제를 이용한 처리에 의해 생성될 수 있다.

[0501] 일부 구현예에서, T 세포 집단은 이카로스(Ikaros)-결함성이다. 이카로스-결함 세포는 이카로스 RNA 또는 단백질을 발현하지 않거나 또는 감소되거나 억제된 이카로스 활성을 갖는 세포를 포함하고, 이카로스-결함 세포는 유전적 접근법에 의해, 예를 들어 RNA 간섭제, 예를 들어 siRNA, shRNA, miRNA를 투여하여 이카로스 발현을 감소시키거나 방지함으로써 생성될 수 있다. 대안적으로, 이카로스-결함 세포는 이카로스 억제제, 예를 들어 레날리도미드(lenalidomide)를 이용한 처리에 의해 생성될 수 있다.

[0502] 구현예에서, T 세포 집단은 DGK-결함성 및 이카로스-결함성이고, 예를 들어 DGK 및 이카로스를 발현하지 않거나 또는 감소되거나 억제된 DGK 및 이카로스 활성을 갖는다. 이러한 DGK 및 이카로스-결함 세포는 본원에 기술된 임의의 방법에 의해 생성될 수 있다.

[0503] 일 구현예에서, NK 세포는 대상체로부터 수득된다. 또 다른 구현예에서, NK 세포는 NK 세포주, 예를 들어 NK-92 세포주(Conkwest)이다.

[0504] *동종이계 CAR*

[0505] 본원에 기술된 구현예에서, 면역 이펙터 세포는 동종이계 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포일 수 있다. 예를 들어 세포는 동종이계 T 세포, 예를 들어 기능성 T 세포 수용체(TCR) 및/또는 인간 백혈구 항원(HLA), 예를 들어 HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II의 발현이 결여된 동종이계 T 세포일 수 있다.

[0506] 기능성 TCR이 결여된 T 세포는 예를 들어 이의 표면 상에 임의의 기능성 TCR을 발현하지 않도록 조작되거나, 기능성 TCR을 포함하는 하나 이상의 서브유닛을 발현하지 않도록 조작되거나(예를 들어, TCR 알파, TCR 베타, TCR 감마, TCR 델타, TCR 엡실론, 및/또는 TCR 제타를 발현하지 않도록(또는 이의 감소된 발현을 나타내도록) 조작되거나), 또는 이의 표면 상에 매우 적은 기능성 TCR을 생성하도록 조작될 수 있다. 대안적으로, T 세포는 예를 들어 TCR의 서브유닛 중 하나 이상의 돌연변이된 또는 절두된 형태의 발현에 의해 실질적으로 손상된 TCR을 발현할 수 있다. 용어 "실질적으로 손상된 TCR"은 이러한 TCR이 숙주에서 유해 면역 반응을 일으키지 않을 것임을 의미한다.

[0507] 본원에 기술된 T 세포는 예를 들어 표면 상에 기능성 HLA를 발현하지 않도록 조작될 수 있다. 예를 들어 본원에 기술된 T 세포는 세포 표면 발현 HLA, 예를 들어 HLA 부류 1 및/또는 HLA 부류 II가 하향조절되도록 조작될 수 있다. 일부 양태에서, HLA의 하향조절은 베타-2 마이크로글로불린(B2M)의 발현을 감소시키거나 제거함으로써 달성될 수 있다. 일부 구현예에서, T 세포는 기능성 TCR 및 기능성 HLA, 예컨대, HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II가 결여될 수 있다.

[0508] 기능성 TCR 및/또는 HLA의 발현이 결여된 변형된 T 세포는 TCR 또는 HLA의 하나 이상의 서브유닛의 녹아웃 또는 녹다운을 포함한 임의의 적합한 수단에 의해 수득될 수 있다. 예를 들어 T 세포는 siRNA, shRNA, 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복체(CRISPR) 전사 활성제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), 또는 징크 핑거 엔도뉴클레아제(ZFN)를 사용한 TCR 및/또는 HLA의 녹다운을 포함할 수 있다.

[0509] 일부 구현예에서, 동종이계 세포는 억제성 분자를 발현하지 않거나 낮은 수준으로 발현하는 세포, 예를 들어 본원에 기술된 임의의 방법에 의해 조작된 세포일 수 있다. 예를 들어 세포는 예를 들어 면역 이펙터 반응을 일으키는 CAR 발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있는 억제성 분자를 발현하지 않거나 낮은 수준으로 발현하는 세포일

수 있다. 억제성 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 예를 들어 DNA, RNA 또는 단백질 수준에서의 억제에 의한 억제성 분자의 억제는 CAR 발현 세포 성능을 최적화할 수 있다. 구현예에서, 억제성 핵산, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 억제성 핵산, 예를 들어 dsRNA, 예를 들어 siRNA 또는 shRNA, 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복체(CRISPR), 전사 활성제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), 또는 징크 핑거 엔도뉴클레아제(ZFN)가 사용될 수 있다.

[0510] *TCR 또는 HLA를 억제하는 siRNA 및 shRNA*

[0511] 일부 구현예에서, TCR 발현 및/또는 HLA 발현은 세포(예를 들어 T 세포)에서 본원에 기술된 억제성 분자(예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타), 및/또는 TCR 및/또는 HLA를 암호화하는 핵산을 표적으로 하는 siRNA 또는 shRNA를 사용해 억제될 수 있다.

[0512] T 세포에서의 siRNA 및 shRNA의 발현은 임의의 통상적인 발현 시스템, 예를 들어 렌티바이러스 발현 시스템을 사용하여 달성될 수 있다.

[0513] TCR의 성분의 발현을 하향조절하는 예시적인 shRNA는 예를 들어 미국 특허 공개 제 2012/0321667호에 기술되어 있다. HLA 부류 I 및/또는 HLA 부류 II 유전자의 발현을 하향조절하는 예시적인 siRNA 및 shRNA는 예를 들어 미국 특허 공개 제2007/0036773호에 기술되어 있다.

[0514] *TCR 또는 HLA를 억제하는 CRISPR*

[0515] 본 명세서에서 사용되는 "CRISPR" 또는 "TCR 및/또는 HLA에 대한 CRISPR" 또는 "TCR 및/또는 HLA를 억제하는 CRISPR"은 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복체의 세트, 또는 이러한 반복체의 세트를 포함하는 시스템을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 "Cas"는 CRISPR-연관 단백질을 나타낸다. "CRISPR/Cas" 시스템은 본원에 기술된 억제성 분자(예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타), 및/또는 TCR 및/또는 HLA 유전자를 침묵시키거나 돌연변이시키는 데 사용될 수 있는 CRISPR 및 Cas로부터 유래된 시스템을 지칭한다.

[0516] 자연 발생 CRISPR/Cas 시스템은 대략적으로 서열결정 진정세균 게놈의 40% 및 서열결정 고세균의 90%에서 발견된다. 문헌[Grissa *et al.* (2007) *BMC Bioinformatics* 8: 172]. 이러한 시스템은 외래 유전 요소, 예컨대 플라스미드 및 파지에 저항성을 부여하는 원핵 면역계의 유형이고, 후천성 면역 형태를 제공한다. 문헌[Barrangou *et al.* (2007) *Science* 315: 1709-1712]; 문헌[Marragini *et al.* (2008) *Science* 322: 1843-1845].

[0517] CRISPR/Cas 시스템은 진핵생물, 예컨대 마우스 또는 영장류에서의 유전자 편집(특정 유전자를 침묵, 증진 또는 변화시키는 것)에 사용하기 위해 변형된 바 있다. 문헌[Wiedenheft *et al.* (2012) *Nature* 482: 331-8]. 이는 특이적으로 설계된 CRISPR 및 하나 이상의 적절한 Cas를 함유하는 플라스미드를 진핵 세포 내로 도입함으로써 달성된다.

[0518] 때때로 CRISPR 유전자좌로 불리는 CRISPR 서열은 교대 반복체 및 스페이서를 포함한다. 자연 발생 CRISPR에서, 스페이서는 통상적으로 박테리아에 외래인 서열, 예컨대 플라스미드 또는 파지 서열을 포함하고; TCR 및/또는 HLA CRISPR/Cas 시스템에서 스페이서는 TCR 또는 HLA 유전자 서열로부터 유래된다.

[0519] CRISPR 유전자좌로부터의 RNA는 구성적으로 발현되고, Cas 단백질에 의해 작은 RNA로 프로세싱된다. 이들은 반복 서열이 측면에 존재하는 스페이서를 포함한다. RNA는 RNA 또는 DNA 수준에서 외인성 유전 요소를 침묵시키도록 다른 Cas 단백질을 이끈다. 문헌[Horvath *et al.* (2010) *Science* 327: 167-170]; 문헌[Makarova *et al.* (2006) *Biology Direct* 1: 7]. 이에 따라, 스페이서는 siRNA와 유사하게 RNA 분자를 위한 주형으로서의 역할을 한다. 문헌[Pennisi (2013) *Science* 341: 833-836].

[0520] 이들은 많은 상이한 유형의 박테리아에서 자연 발생하기 때문에, CRISPR의 정확한 배열 및 Cas 유전자 및 그의 생성물의 구조, 기능, 및 수는 종마다 다소 상이하다. 문헌[Haft et al. (2005) *PLoS Comput. Biol.* 1: e60]; 문헌[Kunin *et al.* (2007) *Genome Biol.* 8: R61]; 문헌[Mojica *et al.* (2005) *J. Mol. Evol.* 60: 174-182];

문헌[Bolotin *et al.* (2005) *Microbiol.* 151: 2551-2561]; 문헌[Pourcel et al. (2005) *Microbiol.* 151: 653-663]; 및 문헌[Stern *et al.* (2010) *Trends. Genet.* 28: 335-340]. 예를 들어 Cse(Cas 하위유형, 에스케리키아 콜라이) 단백질(예를 들어 CasA)은 기능성 복합체인 Cascade를 형성하는데, 이것은 CRISPR RNA 전사체를 Cascade가 보유하는 스페이서-반복체 단위로 프로세싱한다. 문헌[Brouns et al. (2008) *Science* 321: 960-964]. 다른 원핵생물에서, Cas6은 CRISPR 전사체를 프로세싱한다. E. 콜라이에서의 CRISPR-기반 파지 불활성화는 Cascade 및 Cas3을 필요로 하지만, Cas1 또는 Cas2는 필요로 하지 않는다. 피로코쿠스 푸리오수스(Pyrococcus furiosus) 및 다른 원핵생물에서 Cmr(Cas RAMP 모듈) 단백질은 상보성 표적 RNA들을 인식하고 절단하는 작은 CRISPR RNA와 기능성 복합체를 형성한다. 보다 단순한 CRISPR 시스템은 이중 나선의 각각의 가닥에 대해 1개씩, 2개의 활성 절단 부위를 갖는 뉴클레아제인 단백질 Cas9에 의존한다. Cas9 및 변형된 CRISPR 유전자좌 RNA의 조합이 유전자 편집을 위한 시스템에서 사용될 수 있다. 문헌[Pennisi (2013) *Science* 341: 833-836].

[0521] 이에 따라, CRISPR/Cas 시스템은 TCR 및/또는 HLA 유전자의 편집(염기쌍의 부가 또는 결실), 또는 TCR 및/또는 HLA의 발현을 감소시키는 조기 중단의 도입을 위해 사용될 수 있다. CRISPR/Cas 시스템은 대안적으로 RNA 간섭처럼 사용되어, TCR 및/또는 HLA 유전자를 가역적인 방식으로 턴오프할 수 있다. 포유동물 세포에서, 예를 들어 RNA는 Cas 단백질을 TCR 및/또는 HLA 프로모터로 안내하여, RNA 폴리머라아제를 입체적으로 차단할 수 있다.

[0522] TCR 및/또는 HLA을 억제하는 인공 CRISPR/Cas 시스템은 당해 분야에 공지된, 예를 들어 미국 특허 공개 제20140068797호 및 문헌[Cong (2013) Science 339: 819-823]에 기술된 기술을 이용하여 생성될 수 있다. TCR 및/또는 HLA를 억제하는, 본 기술 분야에 공지된 다른 인공 CRISPR/Cas 시스템, 예를 들어, 문헌[Tsai (2014) Nature Biotechnol., 32:6 569- 576], 미국 특허 제 8,871,445호; 미국 특허 제8,865,406호; 미국 특허 제8,795,965호; 미국 특허 제8,771,945호; 및 미국 특허 제8,697,359호에 기술된 것이 또한 생성될 수 있다.

[0523] *TCR 및/또는 HLA를 억제하는 TALEN*

[0524] "TALEN" 또는 "HLA 및/또는 TCR에 대한 TALEN" 또는 "HLA 및/또는 TCR을 억제하는 TALEN"은 본원에 기술된 억제성 분자(예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타), 및/또는 HLA 및/또는 TCR 유전자를 편집하는 데 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제, 전사 활성제 유사 이펙터 뉴클레아제를 지칭한다.

[0525] TALEN은 TAL 이펙터 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합시킴으로써 인공적으로 생성된다. TALE(Transcription activator-like effect)는 HLA 또는 TCR 유전자의 부분을 포함하는 임의의 원하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다. 조작된 TALE를 DNA 절단 도메인과 조합함으로써, HLA 또는 TCR 서열을 포함하는 임의의 원하는 DNA 서열에 특이적인 제한 효소가 생성될 수 있다. 이어서, 이들은 세포 내로 도입될 수 있고, 여기서 이들은 게놈 편집에 사용될 수 있다. 문헌[Boch (2011) *Nature Biotech.* 29: 135-6]; 및 문헌[Boch et al. (2009) *Science* 326: 1509-12]; 문헌[Moscou et al. (2009) *Science* 326: 3501].

[0526] TALE는 잔토모나스(Xanthomonas) 박테리아에 의해 분비되는 단백질이다. DNA 결합 도메인은 제12 및 제13 아미노산을 제외하고, 반복된, 고도로 보존된 33~34개 아미노산 서열을 함유한다. 이들 2개의 위치는 매우 가변적으로, 특정 뉴클레오티드 인식과의 강한 상관관계를 보여준다. 따라서, 이들은 원하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다.

[0527] TALEN을 생성하기 위해, TALE 단백질은 야생형 또는 돌연변이된 FokI 엔도뉴클레아제인 뉴클레아제(N)에 융합된다. TALEN에서의 사용을 위해 FokI에 대한 몇몇의 돌연변이가 이루어진 바 있고; 이들은 예를 들어 절단 특이성 또는 활성을 개선한다. 문헌[Cermak et al. (2011) *Nucl. Acids Res.* 39: e82]; 문헌[Miller et al. (2011) *Nature Biotech.* 29: 143-8]; 문헌[Hockemeyer et al. (2011) *Nature Biotech.* 29: 731-734]; 문헌[Wood et al. (2011) *Science* 333: 307]; 문헌[Doyon et al. (2010) *Nature Methods* 8: 74-79]; 문헌[Szczepek et al. (2007) *Nature Biotech.* 25: 786-793]; 및 문헌[Guo et al. (2010) *J. Mol. Biol.* 200: 96].

[0528] FokI 도메인은 이량체로서 기능하고, 적절한 배향 및 간격으로 표적 게놈 내 부위에 대해 고유한 DNA 결합 도메인을 갖는 2개의 구축물을 필요로 한다. TALE DNA 결합 도메인과 FokI 절단 도메인 사이의 아미노산 잔기의 수 및 2개의 개별 TALEN 결합 부위 사이의 염기의 수 둘 다는 높은 활성 수준의 달성을 위해 중요한 파라미터인 것으로 보인다. 문헌[Miller et al. (2011) *Nature Biotech.* 29: 143-8].

[0529] HLA 또는 TCR TALEN은 이중-가닥 파단(DSB)을 생성하기 위해 세포 내에서 사용될 수 있다. 복구 메커니즘이 비-상동 말단 연결을 통해 파단을 부적절하게 복구하는 경우에 돌연변이가 파단 부위에 도입될 수 있다. 예를 들어 부적절한 복구는 프레임 이동 돌연변이를 도입할 수 있다. 대안적으로, 외래 DNA가 TALEN과 함께 세포 내로 도입될 수 있고; 외래 DNA의 서열 및 염색체 서열에 따라, 이러한 과정은 HLA 또는 TCR 유전자 내의 결손을 교정하거나 또는 이러한 결손을 wt HLA 또는 TCR 유전자 내에 도입하여, 이에 따라 HLA 또는 TCR의 발현을 감소시키기 위해 사용될 수 있다.

[0530] HLA 또는 TCR 내의 서열에 특이적인 TALEN은 모듈 성분을 사용하는 다양한 스킴을 비롯하여 당해 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 구축될 수 있다. 문헌[Zhang et al. (2011) *Nature Biotech.* 29: 149-53]; 문헌[Geibler et al. (2011) *PLoS ONE* 6: e19509].

[0531] *HLA 및/또는 TCR을 억제하는 징크 핑거 뉴클레아제*

[0532] "ZFN" 또는 "징크 핑거 뉴클레아제" 또는 "HLA 및/또는 TCR에 대한 ZFN" 또는 "HLA 및/또는 TCR을 억제하는 ZFN"은 본원에 기술된 억제성 분자(예를 들어, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타), 및/또는 HLA 및/또는 TCR 유전자를 편집하는 데 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제, 징크 핑거 뉴클레아제를 지칭한다.

[0533] TALEN처럼, ZFN은 DNA 결합 도메인에 융합된 FokI 뉴클레아제 도메인(또는 이의 유도체)을 포함한다. ZFN의 경우에, DNA 결합 도메인은 하나 이상의 징크 핑거를 포함한다. 문헌[Carroll et al. (2011) *Genetics Society of America* 188: 773-782]; 및 문헌[Kim et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 1156-1160].

[0534] 징크 핑거는 하나 이상의 아연 이온에 의해 안정화된 작은 단백질 구조 모티프이다. 징크 핑거는 예를 들어 Cys2His2를 포함할 수 있고, 대략 3-bp 서열을 인식할 수 있다. 공지된 특이성의 다양한 징크 핑거를 조합하여 약 6, 9, 12, 15 또는 18-bp 서열을 인식하는 다중-핑거 폴리펩티드를 생성할 수 있다. 파지 디스플레이, 효모 1-하이브리드 시스템, 박테리아 1-하이브리드 및 2-하이브리드 시스템, 및 포유동물 세포를 비롯하여, 특정 서열을 인식하는 징크 핑거(및 이의 조합)를 생성하기 위한 다양한 선택 및 모듈 어셈블리 기술이 이용 가능하다.

[0535] TALEN처럼, ZFN은 DNA를 절단하기 위해 이량체화되어야 한다. 따라서, 한 쌍의 ZFN이 비-회문식 DNA 부위를 표적화하는 데 필요하다. 2개의 개별 ZFN은 DNA의 대향하는 가닥에 결합해야 하고, 이때 이들의 뉴클레아제는 적절하게 이격된다. 문헌[Bitinaite et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 10570-5].

[0536] 또한, TALEN처럼, ZFN은 DNA에 이중-가닥 파단을 생성할 수 있고, 이것은 부적절하게 복구되는 경우에 프레임-시프트 돌연변이를 생성할 수 있고, 이는 세포 내 HLA 및/또는 TCR의 발현 및 양의 감소로 이어질 수 있다. ZFN은 또한 HLA 또는 TCR 유전자를 돌연변이시키기 위해 상동 재조합과 함께 사용될 수 있다.

[0537] HLA 및/또는 TCR 내의 서열에 특이적인 ZFN은 당해 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 구축될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Provasi (2011) Nature Med. 18: 807-815]; 문헌[Torikai (2013) Blood 122: 1341-1349]; 문헌[Cathomen et al. (2008) *Mol. Ther.* 16: 1200-7]; 문헌[Guo et al. (2010) *J. Mol. Biol.* 400: 96]; 미국 특허 공개 제2011/0158957호; 및 미국 특허 공개 제2012/0060230호 참조.

[0538] *텔로머라아제 발현*

[0539] 어떠한 특정한 이론에 구애되고자 함이 없이, 일부 구현예에서, 치료적 T 세포는 T 세포 내에서의 단축된 텔로미어로 인해 환자에서 단기 지속성을 갖고; 이에 따라, 텔로머라아제 유전자를 이용한 형질감염은 T 세포의 텔로미어를 연장시키고 환자에서의 T 세포의 지속성을 개선할 수 있다. 문헌[Carl June, "Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic", Journal of Clinical Investigation, 117:1466-1476 (2007)] 참조. 따라서, 일 구현예에서, 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포는 텔로머라아제 서브유닛, 예를 들어 텔로머라아제의 촉매 서브유닛, 예를 들어 TERT, 예를 들어 hTERT를 이소적으로 발현한다. 일부 양태에서, 본 발명은 세포를 텔로머라아제 서브유닛, 예를 들어 텔로머라아제의 촉매 서브유닛, 예를 들어 TERT, 예를 들어 hTERT를 암호화하는 핵산과 접촉시키는 단계를 포함하는, CAR 발현 세포를 생성하는 방법을 제공한다. 세포를, CAR을 암호화하는 구축물과의 접촉 이전에, 그와 동시에, 또는 이후에 핵산과 접촉시킬 수 있다.

[0540] 일 양태에서, 본 발명은 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포, NK 세포)의 집단을 제조하는 방법을 특징으로 한다. 일 구현예에서, 방법은 다음을 포함한다: 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)의 집단을 제공

하는 단계, 면역 이펙터 세포의 집단을 CAR을 암호화하는 핵산과 접촉시키는 단계; 및 CAR 및 텔로머라아제 발현을 가능하게 하는 조건 하에서, 면역 이펙터 세포의 집단을 텔로머라아제 서브유닛, 예를 들어 hTERT를 암호화하는 핵산과 접촉시키는 단계.

[0541] 일 구현예에서, 텔로머라아제 서브유닛을 암호화하는 핵산은 DNA이다. 일 구현예에서, 텔로머라아제 서브유닛을 암호화하는 핵산은 텔로머라아제 서브유닛의 발현을 유도할 수 있는 프로모터를 포함한다.

[0542] 일 구현예에서, hTERT는 다음과 같은 젠뱅크 단백질 ID AAC51724.1의 아미노산 서열을 갖는다(문헌[Meyerson et al., "hEST2, the Putative 인간 Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization" Cell Volume 90, Issue 4, 22 August 1997, Pages 785-795]):

MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRLGPQGWRLVQRGDPAAFRALVAQCLVC
VPWDARPPPAAPSFRQVSCLKELVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALLDGARGGPPEAFTTSVR
SYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLARCALFVLVAPSCAYQVCGPPLYQLGAAT
QARPPPHASGPRRRLGCERAWNHSVREAGVPLGLPAPGARRRGGSASRSLPLPKRPRRGAAPE
PERTPVGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPARPAEEATSLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPP
STSRPPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLSSLRPSLTGARRLVETIFLGSRPWMP
GTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNHAQCPYGVLLKTHCPLRAAVTPAAGVCAREKPQGSV
AAPEEEDTDPRRLVQLLRQHSSPWQVYGFVRACLRRLVPPGLWGSRHNERRFLRNTKKFISLG
KHAKLSLQELTWKMSVRGCAWLRRSPGVGCVPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLRSF
FYVTETTFQKNRLFFYRKSVWSKLQSIGIRQHLKRVQLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIP
KPDGLRPIVNMDYVVGARTFRREKRAERLTSRVKALFSVLNYERARRPGLLGASVLGLDDIHR
AWRTFVLRVRAQDPPPELYFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQKAA
HGHVRKAFKSHVSTLTDLQPYMRQFVAHLQETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFDVFLRFMC
HHAVRIRGKSYVQCQGIPQGSILSTLLCSLCYGDMENKLFAGIRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLT
HAKTFLRTLVRGVPEYGCVVNLRKTVVNFPVEDEALGGTAFVQMPAHGLFPWCGLLLDTRTL
EVQSDYSSYARTSIRASLTFNRGFKAGRNMRRKLFGVLRLKCHSLFLDLQVNSLQTVCTNIYKI
LLLQAYRFHACVLQLPFHQQVWKNPTFFLRVISDTASLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAGPLPS
EAVQWLCHQAFLLKLTRHRVTYVPLLGSLRTAQTQLSRKLPGTTLTALEAAANPALPSDFKTIL
D (서열번호 284)

[0543]

[0544] 일 구현예에서, hTERT는 서열번호 284의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 서열을 갖는다. 일 구현예에서, hTERT는 서열번호 284의 서열을 갖는다. 일 구현예에서, hTERT는 N-말단, C-말단, 또는 둘 다에서 결실(예를 들어 5, 10, 15, 20, 또는 30개 이하의 아미노산의 결실)을 포함한다. 일 구현예에서, hTERT는 N-말단, C-말단, 또는 둘 다에서 유전자이식 아미노산 서열(예를 들어 5, 10, 15, 20, 또는 30개 이하의 아미노산)을 포함한다.

[0545] **T 세포의 활성화 및 확장**

[0546] T 세포는 일반적으로 예를 들어 미국 특허 제6,352,694호; 제6,534,055호; 제6,905,680호; 제6,692,964호; 제5,858,358호; 제6,887,466호; 제6,905,681호; 제7,144,575호; 제7,067,318호; 제7,172,869호; 제7,232,566호; 제7,175,843호; 제5,883,223호; 제6,905,874호; 제6,797,514호; 제6,867,041호; 및 미국 특허 출원 공개 제20060121005호에 기술된 바와 같은 방법을 사용하여 활성화 및 확장될 수 있다.

[0547] 일반적으로, 본 발명의 T 세포는 CD3/TCR 복합체 관련 신호를 자극하는 작용제 및 T 세포의 표면 상의 공동자극 분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 확장될 수 있다. 특히, T 세포 집단은 본원에 기술된 바와 같이, 예컨대 표면에 고정된 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 항-CD2 항체와의 접촉에 의해, 또는 칼슘 이오노포어와 함께 단백질 키나제 C 활성제(예를 들어 브리오스타틴(bryostatin))와의 접촉에 의해 자극될 수 있다. T 세포의 표면 상의 보조 분자의 공동자극을 위해, 보조 분자에 결합하는 리간드가 사용된다. 예를 들어 T 세포의 집단은 T 세포의 증식을 자극하기에 적절한 조건 하에 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉될 수 있다. CD4+ T 세포 또는 CD8+ T 세포의 증식을 자극하기 위해, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체가 사용될 수 있다. 항-CD28 항체의 예는 9.3, B-T3, XR-CD28(Diaclone, 프랑스 브장송 소재)을 포함하고, 당해 분야에 통상적으로 공지된 다른 방법과 같이 사용될 수 있다(문헌[Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977,

1998]; 문헌[Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9):13191328, 1999]; 문헌[Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999]).

[0548] 특정 양태에서, T 세포에 대한 일차 자극 신호 및 공동자극 신호는 상이한 프로토콜에 의해 제공될 수 있다. 예를 들어 각각의 신호를 제공하는 작용제는 용액 중에 존재하거나 표면에 커플링될 수 있다. 표면에 커플링되는 경우에, 작용제는 동일한 표면(즉, "시스" 형태) 또는 개별 표면(즉, "트랜스" 형태)에 커플링될 수 있다. 대안적으로, 한 작용제는 표면에 커플링되고 다른 한 작용제는 용액 중에 존재할 수 있다. 일 양태에서, 공동자극 신호를 제공하는 작용제는 세포 표면에 결합되고, 일차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 용액 중에 존재하거나 표면에 커플링된다. 특정 양태에서, 둘 다의 작용제가 용액 중에 존재할 수 있다. 일 양태에서, 작용제는 가용성 형태로 존재하고, 이어서, 표면, 예컨대 Fc 수용체 또는 항체 또는 작용제에 결합할 다른 결합 작용제를 발현하는 세포에 가교될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명에서 T 세포를 활성화 및 확장하는 데 사용하기 위해 고려되는 인공 항원 제시 세포(aAPC)에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 제20040101519호 및 제20060034810호를 참조한다.

[0549] 일 양태에서, 2가지의 작용제는 동일한 비드 상에, 즉 "시스"로 또는 개별 비드에, 즉 "트랜스"로 비드 상에 고정된다. 예로서, 일차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 항-CD3 항체 또는 이의 항원-결합 단편이고, 공동자극 신호를 제공하는 작용제는 항-CD28 항체 또는 이의 항원-결합 단편이며; 둘 다의 작용제는 동일한 비드에 동등한 분자량으로 공동 고정된다. 일 양태에서, CD4+ T 세포 확장 및 T 세포 성장을 위해 1:1의 비의 비드에 결합된 각각의 항체가 사용된다. 본 발명의 특정 양태에서, 비드에 결합된 항 CD3:CD28 항체의 비는 1:1의 비를 사용하여 관찰된 확장과 비교하여 T 세포 확장의 증가가 관찰되도록 사용된다. 하나의 특정한 양태에서, 1:1의 비를 사용하여 관찰된 확장과 비교하여 약 1 내지 약 3배의 증가가 관찰된다. 일 양태에서, 비드에 결합된 CD3:CD28 항체의 비는 100:1 내지 1:100 및 그 사이의 모든 정수 값의 범위이다. 본 발명의 일 양태에서, 항-CD3 항체보다 더 많은 항-CD28 항체가 입자에 결합되고, 즉 CD3:CD28의 비는 1 미만이다. 본 발명의 특정 양태에서, 비드에 결합된 항 CD28 항체 대 항 CD3 항체의 비는 2:1보다 크다. 하나의 특정한 양태에서, 비드에 결합된 1:100의 CD3:CD28의 비의 항체가 사용된다. 일 양태에서, 비드에 결합된 1:75의 CD3:CD28의 비의 항체가 사용된다. 추가의 양태에서, 비드에 결합된 1:50의 CD3:CD28의 비의 항체가 사용된다. 일 양태에서, 비드에 결합된 1:30의 CD3:CD28의 비의 항체가 사용된다. 바람직한 일 양태에서, 비드에 결합된 1:10의 CD3:CD28의 비의 항체가 사용된다. 일 양태에서, 비드에 결합된 1:3의 CD3:CD28의 비의 항체가 사용된다. 또한 일 양태에서, 비드에 결합된 3:1의 CD3:CD28의 비의 항체가 사용된다.

[0550] 1:500 내지 500:1 및 그 사이의 임의의 정수 값의 입자 대 세포의 비가 T 세포 또는 다른 표적 세포를 자극하는 데 사용될 수 있다. 당업자가 용이하게 인식할 수 있는 바와 같이, 입자 대 세포의 비는 표적 세포에 대한 입자 크기에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어 작은 크기의 비드는 소수의 세포에만 결합할 수 있지만, 보다 큰 비드는 많은 세포에 결합할 수 있다. 특정 양태에서, 세포 대 입자의 비는 1:100 내지 100:1 및 그 사이의 임의의 정수 값의 범위이고, 추가의 양태에서 이 비는 1:9 내지 9:1 및 그 사이의 임의의 정수 값을 포함하고, 이는 또한 T 세포를 자극하는 데 사용될 수 있다. T 세포 자극을 발생시키는 항-CD3- 및 항-CD28-커플링된 입자 대 T 세포의 비는 위에서 언급된 바와 같이 달라질 수 있지만, 바람직한 특정 값은 1:100, 1:50, 1:40, 1:30, 1:20, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 및 15:1을 포함하고, 하나의 바람직한 비는 T 세포 당 적어도 1:1 입자이다. 일 양태에서, 1:1 이하의 입자 대 세포의 비가 사용된다. 하나의 특정한 양태에서, 바람직한 입자:세포의 비는 1:5이다. 추가의 양태에서, 입자 대 세포의 비는 자극 일에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어 일 양태에서, 입자 대 세포의 비는 제1일에 1:1 내지 10:1이고, 추가의 입자는 이후에 최대 10일 동안 매일 또는 격일로, 1:1 내지 1:10의 최종 비(첨가 일의 세포 수 기준)로 세포에 첨가된다. 하나의 특정한 양태에서, 입자 대 세포의 비는 자극 제1일에 1:1이고, 자극 제3일 및 제5일에 1:5로 조정된다. 일 양태에서, 입자는 매일 또는 격일 기준으로 자극 제1일에 1:1, 제3일 및 제5일에 1:5의 최종 비로 첨가된다. 일 양태에서, 입자 대 세포의 비는 자극 제1일에 2:1이고, 자극 제3일 및 제5일에 1:10으로 조정된다. 일 양태에서, 입자는 매일 또는 격일 기준으로 자극 제1일에 1:1, 제3일 및 제5일에 1:10의 최종 비로 첨가된다. 당업자라면 다양한 다른 비가 본 발명에서 사용하기에 적합할 수 있음을 이해할 것이다. 특히, 비는 입자의 크기 및 세포의 크기 및 유형에 따라 달라질 것이다. 일 양태에서, 사용하기에 가장 전형적인 비는 제1일에 대략 1:1, 2:1 및 3:1이다.

[0551] 본 발명의 추가의 양태에서, 세포, 예컨대 T 세포는 작용제-코팅된 비드와 조합되고, 비드 및 세포를 후속적으로 분리한 후, 세포를 배양한다. 다른 양태에서, 배양 전에, 작용제-코팅된 비드 및 세포를 분리하지 않고, 함께 배양한다. 추가의 양태에서, 비드 및 세포는 먼저 힘, 예컨대 자기력을 인가하여 농축함으로써, 세포 표면

마커의 라이게이션을 증가시켜 세포 자극을 유도한다.

[0552] 예를 들어 세포 표면 단백질은 항-CD3 및 항-CD28이 부착되는 상자성 비드(3x28 비드)가 T 세포에 접촉하도록 함으로써 라이게이션될 수 있다. 일 양태에서, 세포(예를 들어 10^4 내지 10^9개 T 세포) 및 비드(예를 들어 1:1 비의 DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T 상자성 비드)를 완충제, 예를 들어 PBS(2가 양이온, 예컨대, 칼슘 및 마그네슘 미함유) 내에서 조합한다. 다시, 당업자는 임의의 세포 농도가 사용될 수 있음을 쉽게 이해할 수 있다. 예를 들어 표적 세포는 샘플에 매우 드물 수 있고, 단지 샘플의 0.01%만을 이루거나 또는 전체 샘플(즉, 100%)이 관심 표적 세포를 포함할 수 있다. 따라서, 임의의 세포 수가 본 발명의 맥락 내에 있다. 특정 양태에서, 세포 및 입자의 최대 접촉을 보장하기 위해 입자 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는(즉, 세포의 농도를 증가시키는) 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어 일 양태에서, 약 100억 개 세포/ml, 90억 개/ml, 80억 개/ml, 70억 개/ml, 60억 개/ml, 50억 개/ml 또는 20억 개 세포/ml의 농도가 사용된다. 일 양태에서, 1억 개 세포/ml 초과의 농도가 사용된다. 추가의 양태에서, 1000만, 1500만, 2000만, 2500만, 3000만, 3500만, 4000만, 4500만, 또는 5000만 개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가의 일 양태에서 7500만, 8000만, 8500만, 9000만, 9500만, 또는 1억 개 세포/ml의 세포 농도가 사용된다. 추가의 양태에서, 1억 2500만 또는 1억 5000만 개 세포/ml의 농도가 사용될 수 있다. 높은 농도의 사용은 증가된 세포 수율, 세포 활성화, 및 세포 확장을 발생시킬 수 있다. 또한, 높은 세포 농도의 사용은 관심 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포, 예컨대 CD28-음성 T 세포의 보다 효율적인 포획을 가능하게 한다. 이러한 세포의 집단은 치료 가치를 가질 수 있고, 특정 양태에서 수득하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들어 높은 농도의 세포를 사용하는 것은, 정상적으로는 보다 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포의 보다 효율적인 선택을 가능하게 한다.

[0553] 일부 구현예에서, CAR, 예를 들어 본원에 기술된 CAR을 암호화하는 핵산을 형질도입시킨 세포는, 예를 들어 본원에 기술된 방법에 의해 확장된다. 일부 구현예에서, 세포는 수 시간(예를 들어 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 18, 21시간) 내지 약 14일(예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14일)의 기간 동안 배양 중 확장된다. 일부 구현예에서, 세포는 4 내지 9일의 기간 동안 확장된다. 일부 구현예에서, 세포는 8일 이하, 예를 들어 7, 6 또는 5일의 기간 동안 확장된다. 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어, 본원에 기술된 BCMA CAR 세포는 5일 동안 배양 중 확장되고, 생성된 세포는 동일한 배양 조건 하에서 9일 동안 배양 중 확장된 동일한 세포보다 더 강력하다. 효력은, 예를 들어 다양한 T 세포 기능, 예를 들어 증식, 표적 세포 사멸, 사이토카인 생산, 활성화, 이동, 또는 이의 조합에 의해 규정될 수 있다. 일부 구현예에서, 5일 동안 확장된 세포, 예를 들어 본원에 기술된 BCMA CAR 세포는 동일한 배양 조건 하에서 9일 동안 배양 중 확장된 동일한 세포와 비교하여 항원 자극 시 세포 배가의 적어도 1, 2, 3 또는 4배 증가를 보인다. 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어, 본원에 기술된 BCMA CAR을 발현하는 세포는 5일 동안 배양 중 확장되고, 생성된 세포는 동일한 배양 조건 하에서 9일 동안 배양 중 확장된 동일한 세포와 비교하여 더 높은 전염증성 사이토카인 생산, 예를 들어 IFN-γ 및/또는 GM-CSF 수준을 나타낸다. 일부 구현예에서, 5일 동안 확장된 세포, 예를 들어, 본원에 기술된 BCMA CAR 세포는 동일한 배양 조건 하에서 9일 동안 배양 중 확장된 동일한 세포와 비교하여 전염증성 사이토카인 생산(pg/ml), 예를 들어 IFN-γ 및/또는 GM-CSF 수준의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 10배 이상의 증가를 보인다.

[0554] 본 발명의 일 양태에서, 혼합물은 수 시간(약 3시간) 내지 약 14일 또는 그 사이의 임의의 시간상 정수 값 동안 배양될 수 있다. 일 양태에서, 혼합물은 21일 동안 배양될 수 있다. 본 발명의 일 양태에서, 비드 및 T 세포는 함께 약 8일 동안 배양된다. 일 양태에서, 비드 및 T 세포는 함께 2 내지 3일 동안 배양된다. 또한, T 세포의 배양 시간이 60일 이상이 될 수 있도록 여러 사이클의 자극이 요구될 수 있다. T 세포 배양을 위해 적절한 조건은 혈청(예를 들어 소 태아 또는 인간 혈청), 인터류킨-2(IL-2), 인슐린, IFN-γ, IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGFβ, 및 TNF-α 또는 당업자에게 공지된 세포의 성장을 위한 임의의 다른 첨가제를 포함하는 증식 및 생존에 필요한 인자를 포함할 수 있는 적절한 배지(예를 들어 최소 필수 배지 또는 RPMI 배지 1640 또는, X-vivo 15(Lonza))를 포함한다. 세포의 성장을 위한 다른 첨가제는 계면활성제, 플라스마네이트, 및 환원제, 예컨대 N-아세틸-시스테인 및 2-머캅토에탄올을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 배지는 아미노산, 피루브산나트륨, 및 비타민이 첨가된, 무혈청이거나 또는 적절한 양의 혈청(또는 혈장) 또는 규정된 세트의 호르몬, 및/또는 T 세포의 성장 및 확장에 충분한 양의 사이토카인(들)이 보충된 RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α-MEM, F-12, X-Vivo 15, 및 X-Vivo 20, 최적화제를 포함할 수 있다. 항생제, 예를 들어 페니실린 및 스트렙토마이신은 실험적 배양에만 포함되고, 대상체 내에 주입되어야 하는 세포의 배양물에는 포함되지 않는다. 표적 세포는 성장을 지지하기 위해 필요한 조건, 예를 들어 적절한 온도(예를 들어 37℃) 및 분위기(예를 들어 공기 + 5%의 CO_2) 하에 유지된다.

[0555] 일부 구현예에서, 세포는, 예를 들어 본원에 기술된 방법, 예컨대 유세포 분석법에 의해 측정 시 14일의 확장

기간에 걸쳐 세포의 적어도 200배(예를 들어 200배, 250배, 300배, 350배)의 증가를 초래하는, 하나 이상의 인터류킨을 포함하는 적절한 배지(예를 들어 본원에 기술된 배지) 중에서 확장된다. 일부 구현예에서, 세포는 IL-15 및/또는 IL-7(예를 들어, IL-15 및 IL-7)의 존재 하에 확장된다.

[0556] 구현예에서, 본원에 기술된 방법, 예를 들어 CAR 발현 세포 제조 방법은 예를 들어 항-CD25 항체 또는 이의 단편, 또는 CD25-결합 리간드, IL-2를 사용하여 세포 집단으로부터 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포를 제거하는 단계를 포함한다. 세포 집단으로부터의 T 조절 세포, 예를 들어 CD25+ T 세포의 제거 방법은 본원에 기술되어 있다. 구현예에서, 방법, 예를 들어 제조 방법은 세포 집단(예를 들어 T 조절 세포, 예컨대 CD25+ T 세포가 고갈된 세포 집단; 또는 이전에 항-CD25 항체, 이의 단편 또는 CD25-결합 리간드와 접촉시킨 세포 집단)을 IL-15 및/또는 IL-7과 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 예를 들어, (예컨대, 이전에 항-CD25 항체, 이의 단편 또는 CD25-결합 리간드와 접촉시킨) 세포 집단은 IL-15 및/또는 IL-7의 존재 하에 확장된다.

[0557] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 CAR 발현 세포의 제조 중에 인터류킨-15(IL-15) 폴리펩티드, 인터류킨-15 수용체 알파(IL-15Ra) 폴리펩티드, 또는 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드, 예를 들어 hetIL-15 둘 다의 조합을 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체 외에서 접촉된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 CAR 발현 세포의 제조 중에 IL-15 폴리펩티드를 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체 외에서 접촉된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 CAR 발현 세포의 제조 중에 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15 Ra 폴리펩티드 둘 다의 조합을 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체 외에서 접촉된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 CAR 발현 세포의 제조 중에 hetIL-15를 포함하는 조성물과, 예를 들어 생체 외에서 접촉된다.

[0558] 일부 구현예에서 본 명세서에서 기술된 CAR 발현 세포는 생체 외 확장 중에 hetIL-15를 포함하는 조성물과 접촉된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 생체 외 확장 중에 IL-15 폴리펩티드를 포함하는 조성물과 접촉된다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 생체외 확장 중에 IL-15 폴리펩티드 및 IL-15Ra 폴리펩티드 둘 다를 포함하는 조성물과 접촉된다. 일부 구현예에서, 접촉은 림프구 하위집단, 예를 들어 CD8+ T 세포의 생존 및 증식을 초래한다.

[0559] 다양한 자극 시간에 노출된 T 세포는 상이한 특징을 나타낼 수 있다. 예를 들어 전형적인 혈액 또는 분리반출술을 거친 말초 혈액 단핵 세포 생성물은 세포독성 또는 억제제 T 세포 집단(TC, CD8+)보다 더 큰 헬퍼 T 세포 집단(TH, CD4+)을 갖는다. CD3 및 CD28 수용체를 자극하는 것에 의한 T 세포의 생체 외 확장은 T 세포의 집단을 생성하는데, T 세포의 집단은 제8일~제9일 이전에는 주로 TH 세포로 이루어진 반면, 대략 제8일~제9일 이후에는 T 세포의 집단은 점점 더 큰 TC 세포의 집단을 포함한다. 따라서, 치료의 목적에 따라, 대상체에게 주로 TH 세포로 이루어진 T 세포 집단을 주입하는 것이 유리할 수 있다. 이와 유사하게, TC 세포의 항원-특이적 서브세트가 단리되었으면, 이 서브세트를 더 큰 정도로 확장시키는 것이 유리할 수 있다.

[0560] 추가로, CD4 및 CD8 마커에 더하여, 다른 표현형 마커가 세포 확장 과정 중에 유의하게, 그러나 대부분 재현가능하게 달라진다. 따라서, 그러한 재현가능성은, 특정 목적을 위해 활성화된 T 세포 생성물을 조정하는 능력을 가능하게 한다.

[0561] 일단 BCMA CAR이 구축되면, 분자의 활성, 예컨대 항원 자극 후 T 세포를 확장시키는 능력, 재자극의 부재 하에서의 T 세포 확장의 지속 능력, 및 적절한 시험관 내 및 동물 모델에서의 항암 활성(이에 한정되지는 않음)을 평가하기 위해 다양한 분석법이 사용될 수 있다. BCMA CAR의 효과를 평가하기 위한 분석법은 하기에 더욱 상세히 기술되어 있다.

[0562] 일차 T 세포에서의 CAR 발현의 웨스턴 블롯 분석은 단량체 및 이량체의 존재를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어 문헌[Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 아주 간략하게, CAR을 발현하는 T 세포($CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 1:1 혼합물)를 10일 넘게 시험관 내에서 확장시킨 후, 용해 및 환원 조건 하의 SDS-PAGE를 수행한다. 전장 TCR-ζ 세포질 도메인 및 내인성 TCR-ζ 쇄를 포함하는 CAR은 TCR-ζ 쇄에 대한 항체를 사용한 웨스턴 블롯팅에 의해 검출된다. 상기 T 세포 서브세트는 공유적 이량체 형성의 평가를 허용하는 비-환원 조건 하의 SDS-PAGE 분석을 위해 사용된다.

[0563] 항원 자극 후에 CAR^+ T 세포의 시험관 내 확장은 유세포 분석법에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 혼합물을 αCD3/αCD28 aAPC로 자극한 후, 분석할 프로모터의 제어 하에 GFP를 발현하는 렌티바이러스 벡터를 이용하여 형질도입한다. 예시적인 프로모터는 CMV IE 유전자, EF-1α, 유비퀴틴 C, 또는 포스포글리세로키나제(PGK) 프로모터를 포함한다. GFP 형광은 유세포 분석법에 의해 $CD4^+$ 및/또는 $CD8^+$ T 세포 서브세트에서 배

양 제6일에 평가된다. 예를 들어 문헌[Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 대안적으로, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포의 혼합물을 제0일에 αCD3/αCD28 코팅된 자성 비드로 자극하고, 2A 리보솜 스키핑 서열을 사용하여 eGFP와 함께 CAR을 발현하는 2시스트론성 렌티바이러스 벡터를 사용하여 제1 일에 CAR을 이용하여 형질도입한다. 배양물을 세척 후에 BCMA 발현 세포, 예컨대 다발성 골수종 세포주 또는 K562-BCMA로 재자극한다. 외인성 IL-2를 배양물에 격일로 100 IU/ml로 첨가한다. GFP^+ T 세포를 비드 기반 카운팅을 사용하여 유세포 분석법에 의해 카운팅한다. 예를 들어 문헌[Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다.

[0564] 재자극의 부재 하에 지속되는 CAR^+ T 세포 확장을 또한 측정할 수 있다. 예를 들어 문헌[Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 간략하게, 평균 T 세포 부피(fl)는 제0일에 αCD3/αCD28 코팅된 자기 비드를 사용한 자극, 및 제1일에 나타낸 CAR을 사용한 형질도입 후에 쿨터 멀티사이저 III(Coulter Multisizer III) 입자 계수기, 넥셀롬 셀로미터 비전(Nexcelom Cellometer Vision) 또는 밀리포어 셉터(Millipore Scepter)를 사용하여 배양 제8일에 측정한다.

[0565] CART 활성을 측정하기 위해 동물 모델을 또한 사용할 수 있다. 예를 들어 면역결핍 마우스에서 원발성 인간 다발성 골수종을 치료하기 위해 인간 BCMA-특이적 CAR^+ T 세포를 사용하는 이종이식 모델을 사용할 수 있다. 예를 들어 문헌[Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 매우 간략하게, MM의 확립 후에, 마우스를 처리군과 관련하여 무작위화한다. 상이한 수의 BCMA CART 세포가 MM을 보유하는 면역결핍 마우스 내로 주사될 수 있다. 매주 간격으로 질환 진행 및 종양 부담에 대해 동물을 평가한다. 군에 대한 생존 곡선을 로그 순위 검정을 사용하여 비교한다. 또한, 면역결핍 마우스에서 T 세포 주사 4주 후에 절대 말초 혈액 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 수를 또한 분석할 수 있다. 마우스에게 다발성 골수종 세포를 주사하고, 3주 후에 예를 들어, eGFP에 연결된 CAR을 암호화하는 2시스트론성 렌티바이러스 벡터에 의해, BCMA CAR을 발현하도록 조작된 T 세포를 주사한다. T 세포를 주사 전에 모의-형질도입 세포와 혼합함으로써 45~50% 투입 GFP^+ T 세포로 정규화하고, 유세포 분석법에 의해 확인한다. 1주 간격으로 백혈병에 대해 동물을 평가한다. CAR^+ T 세포군에 대한 생존 곡선을 로그 순위 검정을 사용하여 비교한다.

[0566] 세포 증식 및 사이토카인 생산의 평가는 이전에 예를 들어 문헌[Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]에서 기술된 바 있다. 간략하게, CAR 매개된 증식의 평가는 세척된 T 세포를 BCMA를 발현하는 K562 세포와 혼합함으로써 미세적정 플레이트에서 수행하거나 또는 다른 BCMA 발현 골수종 세포를 사용 전에 감마 조사로 조사한다. 항-CD3(클론 OKT3) 및 항-CD28(클론 9.3) 단클론 항체는 T-세포 증식을 자극하기 위한 양성 대조군으로의 역할을 하도록 KT32-BBL 세포를 포함하는 배양물에 첨가되며, 그 이유는 이들 신호가 생체 외에서 장기간 $CD8^+$ T 세포 확장을 지지하기 때문이다. T 세포는 제조업체에 의해 기술된 바와 같이 카운트브라이트(CountBright)™ 형광 비드(Invitrogen, 미국 캘리포니아 주 칼스배드 소재) 및 유세포 분석법을 사용하여 배양물에서 계수된다. CAR+ T 세포는 eGFP-2A 연결된 CAR 발현 렌티바이러스 벡터로 조작된 T 세포를 사용한 GFP 발현에 의해 확인된다. GFP를 발현하지 않는 CAR+ T 세포에 대해, CAR+ T 세포는 비오티닐화 재조합 CD19 단백질 및 2차 아비딘-PE 접합체로 검출된다. T 세포 상의 CD4+ 및 $CD8^+$ 발현은 또한 특이적 단클론 항체(BD Biosciences)로 동시에 검출된다. 사이토카인 측정은 제조업체의 설명에 따라 인간 TH1/TH2 사이토카인 세포측정 비드 어레이 키트(BD Biosciences, 미국 캘리포니아 주 샌 디에고 소재)를 사용하여 재자극 후 24시간 후에 수집된 상청액에서 수행된다. 형광을 FACScalibur 유세포 측정기를 사용하여 평가하고, 데이터를 제조업체의 설명에 따라 분석한다.

[0567] 세포독성은 표준 51Cr-방출 분석법에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어 문헌[Milone *et al.*, Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)]을 참조한다. 간략하게, 표적 세포(BCMA를 발현하는 K562 주 및 원발성 다발성 골수종 세포)를 37℃에서 2시간 동안 빈번하게 교반하면서 51Cr($NaCrO_4$로서, New England Nuclear, 미국 매사추세츠 주 보스턴 소재)을 로딩하고, 완전 RPMI에서 2회 세척하고, 미세적정 플레이트에 도말한다. 이펙터 T 세포를 웰 내에서 완전 RPMI 내에서 표적 세포와, 이펙터 세포:표적 세포(E:T)의 다양한 비로 혼합한다. 배지만 함유하는(자발적 방출, SR) 또는 트리톤-X 100 세제의 1% 용액을 함유하는(총 방출, TR) 추가의 웰을 또한 제조한다. 37℃에서 4시간 인큐베이션한 후, 각각의 웰로부터 상청액을 수확한다. 이어서, 방출된 51Cr을 감마 입자 계수기(Packard Instrument Co, 미국 매사추세츠 주 월섬 소재)를 사용하여 측정한다. 각각의 조건은 적어도 삼중으로 수행되고, 용해 백분율은 하기 식을 사용하여 계산된다: 용해(%) = (ER - SR)/(TR - SR)(여기서, ER은 각각

의 실험 조건의 경우에 방출된 평균 51Cr을 나타낸다).

[0568] 영상화 기술이 종양-보유 동물 모델에서 CAR의 특이적 트래픽킹 및 증식을 평가하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 분석법은 예를 들어 문헌[Barrett *et al*., Human Gene Therapy 22:1575-1586 (2011)]에 기술된 바 있다. 간략하게, NOD/SCID/$\gamma c^{-/-}$(NSG) 마우스 또는 다른 면역결핍체에게 다발성 골수종 세포를 정맥 내 주사하고, 7일 후에 CAR 구축물을 사용한 전기천공 4시간 후에 BCMA CART 세포를 주사한다. T 세포를 반딧불이 루시퍼라제를 발현하도록 렌티바이러스 구축물로 안정적으로 형질감염시키고, 마우스를 생체발광에 대해 영상화한다. 대안적으로, 다발성 골수종 이종이식 모델에서 CAR^+ T 세포의 단일 주사의 치료 효능 및 특이성은 다음과 같이 측정할 수 있다: NSG 마우스에게 반딧불이 루시퍼라제를 안정적으로 발현하도록 형질도입된 다발성 골수종 세포를 주사한 후, 수 일 후에 BCMA CAR 구축물로 전기천공된 T 세포를 꼬리 정맥에 단회 주사한다. 동물을 주사 후 다양한 시점에서 영상화한다. 예를 들어 제5일(처리 2일 전) 및 제8일(CAR^+ PBL 24시간 후)에 대표적인 마우스에서 반딧불이 루시퍼라제 양성 종양의 광자-밀도 열 지도를 생성할 수 있다.

[0569] 대안적으로, 또는 본원에 개시된 방법과 조합하여, CAR 발현 세포의 검출 및/또는 정량화(예를 들어, 시험관 내 또는 생체 내(예를 들어, 임상 모니터링)); 면역 세포 확장 및/또는 활성화; 및/또는 CAR 리간드의 사용을 수반하는 CAR 특이적 선택 중 하나 이상을 위한 방법 및 조성물이 개시된다. 예시적인 일 구현예에서, CAR 리간드는 CAR 분자에 결합하는, 예를 들어 CAR의 세포외 항원 결합 도메인에 결합하는 항체(예를 들어, 항원 결합 도메인에 결합하는 항체, 예를 들어 항유전자형 항체; 또는 세포외 결합 도메인의 불변 영역에 결합하는 항체)이다. 다른 구현예에서, CAR 리간드는 CAR 항원 분자(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 CAR 항원 분자)이다.

[0570] 일 양태에서, CAR 발현 세포를 검출 및/또는 정량화하는 방법이 개시된다. 예를 들어, CAR 리간드는 시험관 내 또는 생체 내에서 CAR 발현 세포를 검출 및/또는 정량화하는 데 사용될 수 있다(예를 들어, 환자에서 CAR 발현 세포의 임상 모니터링, 또는 환자에의 투여). 방법은 다음 단계를 포함한다:

[0571] CAR 리간드(선택적으로, 표지화 CAR 리간드, 예를 들어 태그, 비드, 방사성 또는 형광 표지를 포함하는 CAR 리간드)를 제공하는 단계;

[0572] CAR 발현 세포를 획득하는 단계(예를 들어, CAR 발현 세포를 함유하는 샘플, 예컨대 제조 샘플 또는 임상 샘플을 획득하는 단계);

[0573] CAR 발현 세포를 CAR 리간드와 결합이 일어나는 조건 하에 접촉시켜, 존재하는 CAR 발현 세포의 수준(예를 들어, 양)을 검출하는 단계. CAR 발현 세포와 CAR 리간드의 결합은 FACS, ELISA 등과 같은 표준 기술을 사용하여 검출할 수 있다.

[0574] 또 다른 양태에서, 세포(예를 들어, 면역 이펙터 세포)를 확장 및/또는 활성화하는 방법이 개시된다. 방법은 다음 단계를 포함한다:

[0575] CAR 발현 세포(예를 들어, 제1 CAR 발현 세포 또는 일시적 발현 CAR 세포)를 제공하는 단계;

[0576] 상기 CAR 발현 세포를 CAR 리간드, 예를 들어 본 명세서에서 기술된 바와 같은 CAR 리간드와 면역 세포 확장 및/또는 증식이 일어나는 조건 하에 접촉시켜, 활성화 및/또는 확장된 세포 집단을 생산하는 단계.

[0577] 특정 구현예에서, CAR 리간드가 기질 상에 존재한다(예를 들어, 기질, 예를 들어 비 자연 발생 기질에 고정되거나 부착됨). 일부 구현예에서, 기질은 비 세포 기질이다. 비 세포 기질은 플레이트(예를 들어, 미세적정 플레이트), 막(예를 들어, 니트로셀룰로스 막), 매트릭스, 칩 또는 비드로부터 선택된 고체 지지체일 수 있다. 구현예에서, CAR 리간드는 기질에 (예를 들어, 기질 표면 상에) 존재한다. CAR 리간드는 기질에 공유적으로 또는 비공유적으로 고정되거나, 부착되거나, 회합된다(예를 들어 가교된다). 일부 구현예에서, CAR 리간드는 비드에 부착된다(예를 들어, 공유적으로 부착된다). 전술된 구현예에서, 면역 세포 집단은 시험관 내 또는 생체 외에서 확장될 수 있다. 방법은 CAR 분자의 리간드의 존재 하에, 예를 들어 본원에 기술된 임의의 방법을 사용하여 면역 세포의 집단을 배양하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0578] 다른 구현예에서, 세포를 확장 및/또는 활성화하는 방법은 제2 자극 분자, 예를 들어 CD28의 첨가를 더 포함한다. 예를 들어, CAR 리간드 및 제2 자극 분자는 기질, 예를 들어 1개 이상의 비드에 고정되어, 증가된 세포 확장 및/또는 활성화를 제공할 수 있다.

[0579] 또 다른 양태에서, CAR 발현 세포를 선택 또는 강화하는 방법이 제공된다. 방법은 CAR 발현 세포를 본원에 기술된 바와 같은 CAR 리간드와 접촉시키는 단계; 및 CAR 리간드의 결합에 기초하여 세포를 선택하는 단계를 포함한

다.

[0580] 또 다른 구현예에서, CAR 발현 세포를 고갈, 감소 및/또는 사멸시키는 방법이 제공된다. 방법은 CAR 발현 세포를 본원에 기술된 바와 같은 CAR 리간드와 접촉시키는 단계; 및 CAR 리간드의 결합에 기초하여 세포를 표적화하여, CAR 발현 세포의 수를 감소시키고/감소시키거나 CAR 발현 세포를 사멸시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, CAR 리간드는 독성제(예를 들어, 독소 또는 세포 제거제)에 커플링된다. 또 다른 구현예에서, 항유전자형 항체는 이펙터 세포 활성, 예를 들어 ADCC 또는 ADC 활성을 야기할 수 있다.

[0581] 본원에 개시된 방법에 사용될 수 있는 예시적인 항-CAR 항체가 예를 들어 국제 공개 제2014/190273호 및 문헌[Jena et al., "Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Specific Monoclonal Antibody to Detect CD19-Specific T cells in Clinical Trials", PLOS March 2013 8:3 e57838]에 기술되어 있고, 이의 내용은 참조로 포함된다. 일부 구현예에서, 항유전자형 항체 분자는 항-CD19 항체 분자, 예컨대, 항-CD19 scFv를 인식한다. 예를 들어, 항유전자형 항체 분자는 문헌[Jena et al., PLOS March 2013 8:3 e57838]에 기술된 CD19 특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1과의 결합에 대해 경쟁할 수 있거나; CD19 특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1과 동일한 CDR(예를 들어, Kabat 정의, Chothia 정의, 또는 Kabat 및 Chothia 정의의 조합을 이용한 VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예컨대, 이들 전부)을 가질 수 있거나; CD19 특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1처럼 1개 이상(예컨대, 2개)의 가변 영역을 가질 수 있거나, 또는 CD19 특이적 CAR mAb 클론 번호 136.20.1을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항유전자형 항체는 문헌[Jena et al.]에 기술된 방법에 따라 제조되었다. 또 다른 구현예에서, 항유전자형 항체 분자는 국제 공개 제2014/190273호에 기술된 항유전자형 항체 분자이다. 일부 구현예에서, 항유전자형 항체 분자는 국제 공개 제2014/190273호의 항체 분자, 예컨대, 136.20.1과 동일한 CDR(예를 들어, VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예컨대, 이들 전부)을 갖거나; 국제 공개 제2014/190273호의 항체 분자의 1개 이상(예컨대, 2개)의 가변 영역을 가질 수 있거나, 또는 국제 공개 제2014/190273호의 항체 분자, 예컨대, 136.20.1을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 항-CAR 항체는 예를 들어, 국제 공개 제2014/190273호에 기술된 CAR 분자의 세포외 결합 도메인의 불변 영역에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-CAR 항체는 CAR 분자의 세포외 결합 도메인의 불변 영역, 예컨대, 중쇄 불변 영역(예컨대, CH2-CH3 힌지 영역) 또는 경쇄 불변 영역에 결합한다. 예를 들어, 일부 구현예에서 항-CAR 항체는 국제 공개 제2014/190273호에 기술된 2D3 단클론 항체와의 결합에 대해 경쟁하거나, 2D3와 동일한 CDR(예를 들어, VH CDR1, VH CDR2, CH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, 및 VL CDR3 중 1개 이상, 예를 들어, 이들 전부)을 갖거나, 또는 2D3의 1개 이상(예컨대, 2개)의 가변 영역을 갖거나, 또는 국제 공개 제2014/190273호에 기술된 2D3을 포함한다.

[0582] 일부 양태 및 구현예에서, 본원의 조성물 및 방법은, 예를 들어 2014년 7월 31일에 출원된 미국 일련 번호 제62/031,699호에 기술된 바와 같이 T 세포의 특정 서브세트에 대해 최적화되고, 이의 내용은 그 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다. 일부 구현예에서, T 세포의 최적화된 서브세트는 대조군 T 세포, 예를 들어 동일한 구축물을 발현하는 상이한 유형(예를 들어, $CD8^+$ 또는 $CD4^+$)의 T 세포와 비교 시 증진된 지속성을 나타낸다.

[0583] 일부 구현예에서, $CD4^+$ T 세포는 본원에 기술된 CAR을 포함하며, 이 CAR은 $CD4^+$ T 세포에 적합한 (예를 들어 $CD4^+$ T 세포에 최적화된, 예를 들어 증진된 지속성으로 이어지는) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 ICOS 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, $CD8^+$ T 세포는 본원에 기술된 CAR을 포함하며, 이 CAR은 $CD8^+$ T 세포에 적합한 (예를 들어 $CD8^+$ T 세포에 최적화된, 예를 들어 증진된 지속성으로 이어지는) 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 4-1BB 도메인, CD28 도메인, 또는 ICOS 도메인 이외의 또 다른 공동자극 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR은 본원에 기술된 항원 결합 도메인, 예를 들어 BCMA를 표적화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR, 예를 들어, 표 2, 6, 또는 10의 CAR)을 포함한다.

[0584] 일 양태에서, 대상체, 예를 들어 암을 앓는 대상체를 치료하는 방법이 본원에 기술된다. 방법은 상기 대상체에게 유효량의

[0585] 1) CAR을 포함하는 $CD4^+$ T 세포(CAR^{CD4+})로서,

[0586] 항원 결합 도메인, 예컨대, 본원에 기술된 항원 결합 도메인, 예컨대, BCMA를 표적화하는 항원 결합 도메인, 예컨대, 표 2, 6, 또는 10의 항원 결합 도메인;

[0587] 막관통 도메인; 및

[0588] 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 제1 공동자극 도메인, 예를 들어 ICOS 도메인을 포함하는 CAR^{CD4+}; 및

[0589] 2) CAR을 포함하는 $CD8^+$ T 세포(CAR^{CD8+})로서,

[0590] 항원 결합 도메인, 예컨대, 본원에 기술된 항원 결합 도메인, 예컨대, BCMA를 표적화하는 항원 결합 도메인, 예컨대, 표 2, 6, 또는 10의 항원 결합 도메인;

[0591] 막관통 도메인; 및

[0592] 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 제2 공동자극 도메인, 예를 들어 4-1BB 도메인, CD28 도메인, 또는 ICOS 도메인 이외의 또 다른 공동자극 도메인을 포함하는 CAR^{CD8+};

[0593] 을 투여하는 단계를 포함하며,

[0594] CAR^{CD4+} 및 CAR^{CD8+}은 서로 상이하다.

[0595] 선택적으로, 방법은

[0596] 3) CAR을 포함하는 제2 CD8+ T 세포(제2 CAR^{CD8+})로서,

[0597] 항원 결합 도메인, 예컨대, 본원에 기술된 항원 결합 도메인, 예컨대, BCMA와 특이적으로 결합하는 항원 결합 도메인, 예컨대, 표 2, 6, 또는 10의 항원 결합 도메인;

[0598] 막관통 도메인; 및

[0599] 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제2 CAR^{CD8+}을 투여하는 단계를 더 포함하며, 제2 제2 CAR^{CD8+}은 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어 제2 CAR^{CD8+} 상에 존재하지 않는 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고, 선택적으로 ICOS 신호전달 도메인은 포함하지 않는다.

[0600] 본원의 실시예 섹션에 기술된 것뿐만 아니라 당해 분야에 알려진 것들을 비롯한 다른 분석법도 본 발명의 BCMA CAR 구축물을 평가하는 데 사용될 수 있다.

[0601] **치료적 응용**

[0602] *BCMA 관련 질환 및/또는 장애*

[0603] 일 양태에서, 본 발명은 BCMA 발현과 관련된 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 일 양태에서, 본 발명은 종양의 일부는 BCMA에 대해 음성이고 종양의 일부는 BCMA에 대해 양성인 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명의 CAR은 상승된 BCMA의 발현과 연관된 질환의 치료를 거친 대상체를 치료하는 데 유용하고, 여기서 상승된 수준의 BCMA에 대한 치료를 거친 대상체는 상승된 수준의 BCMA와 연관된 질환을 나타낸다. 구현예에서, 본 발명의 CAR은 BCMA의 발현과 연관된 질환의 치료를 거친 대상체를 치료하는 데 유용하고, 여기서 BCMA의 발현과 관련된 치료를 거친 대상체는 BCMA의 발현과 연관된 질환을 나타낸다.

[0604] 일부 구현예에서, 본 발명은 BCMA가 정상 세포 및 암 세포 둘 다에서 발현되지만 정상 세포에서 보다 낮은 수준으로 발현되는 것인 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 방법은 예를 들어 본원에 기술된 분석법에 의해 결정 시, BCMA CAR이 BCMA를 발현하는 암 세포에 결합하여 이를 사멸시키도록 하는 친화도로 결합하지만 BCMA를 발현하는 정상 세포는 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% 미만을 사멸시키는 본 발명의 CAR을 선택하는 단계를 추가로 포함한다. 예를 들어, 사멸 분석법, 예컨대, Cr51 CTL에 기반한 유세포 분석법이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, BCMA CAR은 표적 항원에 대해 10^{-4} M 내지 10^{-8} M, 예컨대, 10^{-5} M 내지 10^{-7} M, 예컨대, 10^{-6} M 또는 10^{-7} M의 결합 친화도 KD를 갖는 항원 결합 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, BCMA 항원 결합 도메인은 기준 항체, 예를 들어 본원에 기술된 항체보다 적어도 5배, 10배, 20배, 30배, 50배, 100배 또는 1,000배 더 적은 결합 친화도를 갖는다.

[0605] 일 양태에서, 본 발명은 포유동물 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포에서의 발현을 위해 프로모터에 작동 가능하게 연결된 BCMA CAR을 포함하는 벡터에 관한 것이다. 일 양태에서, 본 발명은 BCMA 발현 종양을 치료하는 데 사용하기 위한 BCMA CAR을 발현하는 재조합 면역 이펙터 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포를 제공하고, 이때, BCMA CAR을 발현하는 재조합 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 BCMA CAR

발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)로 불린다. 일 양태에서, 본 발명의 BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)는 BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)가 종양 세포를 표적화하고 종양의 성장이 억제되도록 종양 세포를 그의 표면 상에 발현된 본 발명의 적어도 1개의 BCMA CAR과 접촉시킬 수 있다.

[0606] 일 양태에서, 본 발명은 BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)가 항원에 반응하여 활성화되고 암 세포를 표적화하도록 종양 세포를 본 발명의 BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)와 접촉시키는 단계를 포함하는 BCMA 발현 종양 세포의 성장을 억제하는 방법에 관한 것이며, 여기서 종양의 성장은 억제된다.

[0607] 일 양태에서, 본 발명은 대상체에서의 암의 치료 방법에 관한 것이다. 방법은 암이 대상체에서 치료되도록 대상체에게 본 발명의 BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)를 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명의 BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)에 의해 치료될 수 있는 암의 예는 BCMA의 발현과 관련된 암이다.

[0608] 본 발명은 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)가 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하도록 유전자 변형되고 BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)가 이를 필요로 하는 수용자에게 주입되는 유형의 세포 요법을 포함한다. 주입된 세포는 수용자 내에서 종양 세포를 사멸시킬 수 있다. 항체 요법과는 달리, CAR 변형된 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포는 생체 내에서 복제할 수 있어서 장기간 존속하고, 이는 지속된 종양 제어로 이어질 수 있다. 다양한 양태에서, 환자에게 투여된 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포), 또는 그의 자손은 환자에게 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)를 투여한 후 환자 내에서 적어도 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 13개월, 14개월, 15개월, 16개월, 17개월, 18개월, 19개월, 20개월, 21개월, 22개월, 23개월, 2년, 3년, 4년, 또는 5년 동안 지속된다.

[0609] 본 발명은 또한 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)가 키메라 항원 수용체(CAR)를 일시적으로 발현하도록, 예를 들어 시험관 내 전사된 RNA에 의해, 변형되고, 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)가 이를 필요로 하는 수용자에게 주입되는 유형의 세포 요법을 포함한다. 주입된 세포는 수용자 내에서 종양 세포를 사멸시킬 수 있다. 따라서, 다양한 양태에서, 환자에게 투여된 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)는 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)가 환자에게 투여된 후 1개월 미만, 예를 들어, 3주, 2주, 1주 동안 존재한다.

[0610] 특정 이론에 구애되고자 함이 없이, CAR 변형 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)에 의해 유발되는 항-종양 면역 반응은 능동 또는 수동 면역 반응일 수 있거나, 대안적으로 직접 대 간접 면역 반응으로 인한 것일 수 있다. 일 양태에서, CAR 형질도입된 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)는 BCMA를 발현하는 인간 암 세포에 반응하여 특이적 전염증성 사이토카인 분비 및 강력한 세포용해 활성을 나타내고, 가용성 BCMA 억제에 저항하고, 방관자 사멸을 매개하고, 확립된 인간 종양의 퇴행을 매개한다. 예를 들어, BCMA 발현 종양의 불균질 영역 내의 항원이 없는 종양 세포는 인접한 항원-양성 암 세포에 대해 이전에 반응한 BCMA-재지정 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)에 의해 간접 파괴되기 쉬울 수 있다.

[0611] 일 양태에서, 본 발명의 완전 인간 CAR 변형 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)는 포유동물에서의 생체 외 면역화 및/또는 생체 내 요법을 위한 백신의 유형일 수 있다. 일 양태에서, 포유동물은 인간이다.

[0612] 생체 외 면역화와 관련하여, 다음 중 적어도 하나가 세포를 포유동물 내로 투여하기 전에 시험관 내에서 일어난다: i) 세포의 확장, ii) CAR을 암호화하는 핵산의 세포로의 도입 또는 iii) 세포의 동결보존.

[0613] 생체 외 절차는 당해 분야에 잘 알려져 있고, 하기에 보다 상세하게 논의된다. 간략하게, 포유동물(예를 들어, 인간)로부터 세포가 단리되고, 이 세포는 본원에 개시된 CAR을 발현하는 벡터로 유전자 변형된다(즉, 시험관 내에서 형질도입되거나 형질감염된다). CAR 변형 세포는 포유동물 수용자에게 투여되어 치료상의 이익을 제공할 수 있다. 포유동물 수용자는 인간일 수 있고, CAR 변형 세포는 수용자와 관련하여 자가일 수 있다. 대안적으로, 세포는 수용자와 관련하여 동종이계, 동계 또는 이종계일 수 있다.

[0614] 조혈 줄기 세포 및 전구 세포의 생체 외 확장을 위한 절차는 본원에 참고로 포함된 미국 특허 제 5,199,942호에 기술되어 있고, 본 발명의 세포에 적용될 수 있다. 다른 적합한 방법이 당해 분야에 공지되어 있고, 따라서 본 발명은 세포의 생체 외 확장의 임의의 특정한 방법에 한정되지 않는다. 간략하게, T 세포의 생체 외 배양 및 확장은 (1) 포유동물로부터 말초 혈액 수확물 또는 골수 이식편으로부터 CD34+ 조혈 줄기 및 전구 세포를 수집하는 것; 및 (2) 이러한 세포를 생체 외 확장시키는 것을 포함한다. 미국 특허 제5,199,942호에 기술된 세포 성장

인자에 더하여, flt3-L, IL-1, IL-3 및 c-kit 리간드와 같은 다른 인자가 세포의 배양 및 확장을 위해 사용될 수 있다.

[0615] 생체 외 면역화와 관련하여 세포-기반 백신을 사용하는 것에 더하여, 본 발명은 또한 환자에서 항원에 대해 유도된 면역 반응을 야기하는 생체 내 면역화를 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

[0616] 일반적으로, 본원에 기술된 바와 같이 활성화되고 확장된 세포는 면역손상된 개체에서 발생하는 질환의 치료 및 예방에 사용될 수 있다. 특히, 본 발명의 CAR 변형된 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 BCMA의 발현과 관련된 질환, 장애 및 병태의 치료에 사용된다. 특정 양태에서, 본 발명의 세포는 BCMA의 발현과 관련된 질환, 장애 및 병태의 발생 위험이 있는 환자의 치료에 사용된다. 따라서, 본 발명은 BCMA의 발현과 관련된 질환, 장애 및 병태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명의 CAR 변형된 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 투여하는 단계를 포함하는, BCMA의 발현과 관련된 질환, 장애 및 병태의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0617] 일 양태에서, 본 발명의 CAR 발현 세포(예를 들어, CART 세포 또는 CAR 발현 NK 세포)는 암 또는 악성 종양과 같은 증식성 질환, 또는 골수형성이상, 골수형성이상 증후군 또는 전백혈병과 같은 전암성 병태를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 암은 혈액암이다. 혈액암 병태는 혈액, 골수 및 림프계에 영향을 미치는 암의 유형, 예컨대 백혈병 및 악성 림프증식성 병태이다.일 양태에서, 혈액암은 백혈병 또는 혈액학적이다. BCMA와 관련된 질환 또는 장애의 예는 다발성 골수종(MM으로도 공지됨)이다(문헌[Claudio et al., *Blood*. 2002, 100(6):2175-86]; 및 문헌[Novak et al., *Blood*. 2004, 103(2):689-94] 참조). 형질 세포 골수종 또는 칼러병으로도 공지된 다발성 골수종은 골수 내 비정상 또는 악성 형질 B-세포의 축적을 특징으로 하는 암이다. 빈번하게, 암 세포는 인접한 골에 침습하여, 골격 구조를 파괴하고 골통 및 골절을 야기한다. 대부분의 경우의 골수종은 또한 악성 형질 세포의 클론 증식에 의해 과량으로 생산되는 비정상적 면역글로불린인 파라단백질(M 단백질 또는 골수종 단백질로도 공지됨)의 생산을 특징으로 한다. 30g/L 초과의 혈청 파라단백질 수준은 국제 골수종 연구 그룹(International Myeloma Working Group, IMWG)의 진단 기준에 따라 다발성 골수종으로 진단된다(문헌[Kyle et al. (2009), Leukemia. 23:3-9] 참조). 다발성 골수종의 다른 증상 또는 징후는 감소된 신장 기능 또는 신부전, 골 병변, 빈혈, 고칼슘혈증 및 신경계 증상을 포함한다.

[0618] 다발성 골수종을 다른 형질 세포 증식성 장애와 구별하기 위한 기준은 국제 골수종 연구 그룹에 의해 확립된 바 있다(문헌[Kyle et al. (2009), Leukemia. 23:3-9] 참조). 다음의 기준 3가지 모두가 충족되어야 한다:

[0619] 클론 골수 형질 세포 ≥10%

[0620] 혈청 및/또는 소변 단일클론 단백질의 존재(진성 비 분비 다발성 골수종 환자에서는 제외)

[0621] 기저 형질 세포 증식성 장애에서 기인한 말초 기관 손상의 증거, 특히

[0622] 고칼슘혈증: 혈청 칼슘 ≥11.5 mg/100 ml

[0623] 신장 기능부전: 혈청 크레아티닌 > 1.73 mmol/l

[0624] 빈혈: 정상 하한 미만인 > 2 g/100 ml의 헤모글로빈 값, 또는 헤모글로빈 값 < 10 g/100 ml을 갖는 정상혈색소성, 정상혈구성

[0625] 골 병변: 용해 병변, 중증 골감소증 또는 병리학적 골절.

[0626] 본원에 기술된 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있는 기타 형질세포 증식성 장애는 무증상 골수종(무증상 다발골수종 또는 무통성 골수종), 미결정 유의성의 단일클론 감마병증(MGUS), 발덴스트롬의 마크로글로불린혈증, 형질세포종(예를 들어, 형질세포 질환, 고립성 골수종, 고립성 형질세포종, 골수외 형질세포종, 및 다발성 형질세포종), 전신 아밀로이드 경쇄 아밀로이드증, 및 POEMS 증후군(크로우·후카세 증후군, 타카츠키병, 및 PEP 증후군으로도 알려져 있음)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0627] 2종의 병기 결정 시스템이 다발성 골수종의 병기 결정에 사용된다: 국제 병기 결정 시스템(International Staging System, ISS)(문헌[Greipp et al. (2005), J. Clin. Oncol. 23 (15):3412-3420] 참조) 및 듀리-살몬(Durie-Salmon) 병기 결정 시스템(DSS)(문헌[Durie et al. (1975), Cancer 36 (3): 842-854] 참조). 2종의 병기 결정 시스템이 아래 표에 요약되어 있다:

[0628] [표 15]

[0629] 다발성 골수종의 병기 결정을 위한 병기 결정 시스템

병기	국제 병기 결정 시스템		듀리-살몬 병기 결정 시스템	
	기준	중앙값 생존기간	기준	중앙값 생존기간*
I	β_2M <3.5 mg/l 및 혈청 알부민 ≥ 3.5 g/dL	62 개월	다음 전부: 헤모글로빈 수준 >10 g/dL 혈청 칼슘, 정상 또는 < 12 mg/dL 골 x-선, 정상 또는 오로지 하나의 형질세포종 낮은 단일클론 단백질 생산(24 시간당 IgG < 5 g/dL, IgA < 3 g/dL, 벤스 존스 단백질 < 4 g/dL)	IA: 62 개월 IB: 22 개월
II	병기 I 또는 병기 III 이 아님	44 개월	병기 I 또는 병기 III 이 아님	IIA: 58 개월 IIB: 354 개월
III	β_2M ≥ 5.5 mg/l	29 개월	다음 중 하나 이상: 헤모글로빈 수준 < 8.5 g/dL 혈청 칼슘, 정상 또는 > 12 mg/dL 진행성 골용해성 병변 높은 단일클론 단백질 생산(24 시간당 IgG > 7 g/dL, IgA > 5 g/dL, 벤스 존스 단백질 > 12 g/dL)	IIIA: 45 개월 IIIB: 24 개월

*듀리-살몬 병기 결정 시스템은 또한 신장 기능의 상태를 나타내는 하위분류를 포함한다. "A" 또는 "B"의 명칭이 병기 숫자 다음에 부가되고, 여기서 "A"는 상대적으로 정상적인 신장 기능(혈청 크레아티닌 값 <2.0 mg/dL)을 나타내고, B는 비정상적인 신장 기능(혈청 크레아티닌 값 >2.0 mg/dL)을 나타낸다.

[0630]

[0631] 다발성 골수종에 대한 제3의 병기 결정 시스템은 개정된 국제 병기 분류 시스템(Revised International Staging System, R-ISS)으로 지칭된다(문헌[Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, et al. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology 2015;33:2863-9](전체가 본원에 참고로 포함됨) 참조). R-ISS 병기 I은 ISS 병기 I(혈청 β2-마이크로글로불린 수준 < 3.5 mg/L 및 혈청 알부민 수준 ≥ 3.5 g/dL), 비 고위험 CA[del(17p) 및/또는 t(4;14) 및/또는 t(14;16)], 및 정상 LDH 수준(정상 범위 상한 미만)을 포함한다. R-ISS 병기 III은 ISS 병기 III(혈청 β2-마이크로글로불린 수준 > 5.5 mg/L) 및 고위험 CA 또는 높은 LDH 수준을 포함한다. R-ISS 병기 II는 모든 다른 가능한 조합을 포함한다.

[0632] 환자의 반응은 문헌[Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. The Lancet Oncology;17(8):e328-e3460](전체가 본원에 참고로 포함됨)에 기술된 바와 같은 IMWG 2016 기준을 기반으로 하여 결정될 수 있다. 표 16은 반응 평가에 대한 IMWG 2016 기준을 제공한다.

[0633] [표 16]

[0634] 최소 잔존 질환(MRD)에 대한 기준을 포함한 반응 평가에 대한 IMWG 기준

	반응 기준*
IMWG MRD 기준(아래에 정의된 바와 같은 완전 반응을 요함)	
지속형 MRD-음성	골수에서 MRD 음성(NGF 또는 NGS, 또는 둘 다) 및 아래에 정의된 영상화에 의해, 최소 1년의 간격이 확인됨. 후속 평가가 음성의 지속 기간을 추가로 명시하기 위해 사용될 수 있음(예를 들어, 5년째 MRD-음성)†
플로우 MRD-음성	10^5개 중 1개 이상의 유핵 세포의 최소 감도로 다발성 골수종에서 MRD 검출을 위한 EuroFlow 표준 작업 절차(또는 검증된 등가의 방법)를 이용한 골수 흡인물 상에서의 NGF‡에 의한 표현형 이상 클론 형질 세포의 부재
서열분석 MRD-음성	10^5개 중 1개 이상의 유핵 세포§의 최소 감도로 LymphoSIGHT 플랫폼(또는 검증된 등가의 방법)을 이용한 골수 흡인물의 DNA 서열 결정 이후 얻어진 2개 미만의 동일한 서열분석 판독치로 클론의 존재가 정해지는, 골수 흡인물 상 NGS에 의한 클론 형질 세포의 부재
영상화 추가 MRD-음성	기준선 또는 이전의 PET/CT에서 확인된 추격자 흡수 증가의 모든 영역 소실 또는 더 적은 종격 혈액 풀 SUV로의 감소 또는 주위 정상 조직 미만으로의 감소와 함께, NGF 또는 NGS에 의해 정해지는 MRD 음성¶
표준 IMWG 반응 기준‖	
엄격한 완전 반응	정상 FLC 비율** 및 면역조직화학에 의한 골수 생검 중 클론 세포의 부재와 함께 아래에서 정해지는 바와 같은 완전 반응(100개 이상의 형질 세포 계수 후, 각각 κ 및 λ 환자에 대하여 4:1 이하 또는 1:2 이상의 κ/λ 비율)††
완전 반응	혈청 및 소변에 대한 음성 면역고정 및 임의의 면조직 형질세포종의 소실 및 골수 흡인물에서 5% 미만의 형질 세포

[0635]

매우 우수한 부분 반응	면역고정에 의해 검출 가능하지만 전기영동에서 검출 가능하지 않은 혈청 및 소변 M-단백질, 또는 혈청 M-단백질의 90% 이상의 감소와 함께 24시간당 100 mg 미만의 소변 M-단백질 수준
부분 반응	혈청 M-단백질의 50% 이상의 감소와 함께 24시간 소변 M-단백질의 90% 이상까지 또는 24시간당 200 mg 미만으로의 감소; 혈청 및 소변 M-단백질이 측정 불가능한 경우, 관여 FLC 수준과 비관여 FLC 수준 차이의 50% 이상의 감소가 M-단백질 기준 대신에 요구됨; 혈청 및 소변 M-단백질이 측정 불가능하고, 무혈청 라이트 분석법이 또한 측정 불가능한 경우, 기준선 골수 형질-세포 백분율이 30% 이상이었다면, M-단백질 대신 형질 세포의 50% 이상의 감소가 요구됨. 이러한 기준 외에, 기준선에 존재하는 경우, 연조직 형질세포종의 크기(SPD)§§의 50% 이상의 감소가 또한 요구됨.
최소 반응	혈청 M-단백질의 25% 이상 49% 이하의 감소 및 24시간 소변 M-단백질의 50~89% 감소. 위에 열거된 기준 외에, 기준선에 존재하는 경우, 연조직 형질세포종의 크기(SPD)§§의 50% 이상의 감소가 또한 요구됨.
안정 질환	반응의 지표로서의 이용이 권장되지 않음; 질환의 안정성은 진행까지의 시간 추정치를 제공함으로써 가장 잘 설명됨. 완전 반응, 매우 우수한 부분 반응, 부분 반응, 최소 반응, 또는 진행성 질환에 대한 기준을 충족시키지 않음.
진행성 질환¶¶.‖‖	다음 기준 중 임의의 하나 이상: 다음 기준 중 하나 이상에서 최저로 확인된 반응 값으로부터 25%의 증가: 혈청 M-단백질(절대 증가는 0.5 g/dL 이상이어야 함); 최저 M 성분이 5 g/dL 이상인 경우, 1 g/dL 이상의 혈청 M-단백질 증가; 소변 M-단백질(절대 증가는 200 mg/24h 이상이어야 함); 측정 가능한 혈청 및 소변 M-단백질 수준이 없는 환자에서, 관여 FLC 수준과 비관여 FLC 간 차이(절대 증가는 10 mg/dL 초과여야 함); 측정 가능한 혈청 및 소변 M-단백질 수준이 없고 측정 가능한 관여 FLC 수준이 없는 환자의 경우, 골수 형질-세포 백분율은 기준선 상태와 관계 없음(절대 증가는 10% 이상이어야 함); 새로운 병변(들)의 출현, 1개 초과의 병변의 SPD§§에서 최악의 경우로부터 50% 이상의 증가, 또는 단축에서 1 cm 초과의 이전 병변의 최장 직경의 50% 이상의 증가; 이것이 질환의 유일한 척도인 경우, 손환 형질 세포의 30% 이상의 증가(μL당 최소 200개의 세포)
임상적 재발	임상적 재발은 다음 기준 중 하나 이상을 요한다: 기저 클론 형질-세포 증식 장애와 관련된 질환 및/또는 말초 기관 기능장애의 증가에 대한 직접적인 지표(CRAB 특징). 이는 진행 또는 무진행 생존까지의 시간 계산에는 사용되지 않지만 선택적으로 또는 임상 실무에 사용하기 위해 보고될 수 있는 것으로 열거됨; 새로운 연조직 형질세포종 또는 골 병변의 생성(골다공증 골절은 진행을 구성하지 않음);

	기존 형질세포종 또는 골 병변의 크기의 분명한 증가. 분명한 증가는 측정 가능한 병변의 SPD§§에 의해 일련적으로 측정되는 바와 같은 50%(및 1 cm 이상) 증가로 정해짐; 고칼슘혈증(11 mg/dL 초과); 요법 또는 다른 비-골수종 관련 병태와 관련 없이 2 g/dL 이상의 헤모글로빈 감소; 요법의 시작으로부터 및 골수종에 기인하는 2 mg/dL 이상의 혈청 크레아티닌의 상승; 혈청 파라단백질 관련 과점도.
완전 반응으로부터의 재발(종점이 무질환 생존인 경우에만 이용)	다음 기준 중 임의의 하나 이상: 면역고정 또는 전기영동에 의한 혈청 또는 소변 M-단백질의 재출현; 골수에서 5% 이상의 형질 세포 생성; 임의의 다른 진행 징후의 출현(즉, 새로운 형질세포종, 용해성 골 병변, 또는 고칼슘혈증 상기 참고)
MRD 음성으로부터의 재발(종점이 무질환 생존인 경우에만 이용)	다음 기준 중 임의의 하나 이상: MRD 음성 상태의 손실(NGF 또는 NGS에 대한 클론 형질 세포의 증거, 또는 골수종의 재발에 대한 양성 영상화 연구); 면역고정 또는 전기영동에 의한 혈청 또는 소변 M-단백질의 재출현; 골수에서 5% 이상의 클론 형질 세포 생성; 임의의 다른 진행 징후의 출현(즉, 새로운 형질세포종, 용해성 골 병변, 또는 고칼슘혈증)

MRD 평가를 위해, 제1 골수 흡인물은 MRD(형태학 아님)로 보내져야 하고, 이러한 샘플은 최소 2 mL의 부피(충분한 세포를 얻기 위해), 그러나 혈액 희석을 막기 위해 최대 4 mL 내지 5 mL로 한 번의 채취로 취해져야 한다. IMWG=국제 골수종 연구 그룹. MRD=최소 잔존 질환. NGF=차세대 플로우. NGS=차세대 서열분석. FLC=유리 경쇄. M-단백질=골수종 단백질. SPD=측정된 병변의 최대 수직 직경의 곱의 합. CRAB 특징=칼슘 상승, 신부전, 빈혈, 용해성 골 병변. FCM=유세포 분석법. SUVmax=최대 표준 흡수 값. MFC=다중파라미터 유세포 분석. ^{18}F-FDG PET=^{18}F-플루오로데옥시글루코스 PET. ASCT=자가 줄기 세포 이식.

*모든 반응 카테고리에는 임의의 새로운 요법을 시작하기 전 임의의 시점에 이루어지는 두 개의 연이은 평가가 요구됨; MRD의 경우에는 두 개의 연이은 평가가 요구되지 않지만, 각 치료 단계 후 MRD에 대한 정보가 외삽된다(예를 들어, 유도, 고용량 요법/ASCT, 통합, 유지 후). MRD 검사는 의심되는 완전 반응 시점에만 개시되어야 한다.

반응 및 MRD의 모든 카테고리에는 방사선학적 연구가 수행되었다면 진행성 또는 새로운 골 병변의 공지된 증거가 요구되지 않는다. 그러나 방사선학 연구에는 영상화 MRD-음성 상태가 보고되는 경우 FDG PET의 요건을 제외하고 이러한 반응 요건을 만족시킬 것이 요구되지 않는다. †지속형 MRD 음성은 보고될 때 또한 이용된 방법(예를 들어, 지속형 플로우 MRD-음성, 지속형 서열분석 MRD-음성)의 주석을 달아야 한다. ‡골수 MFC는 NGF 지침을 따라야 한다(문헌[Paiva B, Gutierrez NC, Rosinol L, et al, Blood 2012; 119: 687-91]). 기준 NGF 방법은 광범위하게 검증된 8색의 2 튜브 접근법이다. 2 튜브 접근법은 더 많은 수의 세포 획득으로 인해 신뢰성, 일관성, 및 감도를 개선한다. 8색 기술은 전 세계적으로 널리 이용 가능하며, NGF 방법은 이미 전세계 다수 플로우 실험실에서 채택되어 왔다. 완전 8색 방법은 오류, 시간, 및 비용을 감소시키는 동결건조된 항체 혼합물을 이용하여 가장 효율적이다. 5백만 개의 세포가 평가되어야 한다. 이용된 FCM 방법은 10^5개 중 적어도 1개 형질 세포의 검출 감도를 가져야 한다. §골수 흡인물에 대한 DNA 서열분석법은 LymphoSIGHT(Sequenta)와 같은 검증된 분석법을 이용해야 한다. ¶Zamagni 등(문헌[Zamagni E, Nanni C, Mancuso K, et al. Clin Cancer

Res 2015; 21: 4384-90]) 및 전문가 패널(IMPetUs; PET 사용을 위한 이탈리아 골수종 기준)(문헌[Usmani SZ, Mitchell A, Waheed S, et al. Blood 2013; 121: 1819-23]; 문헌[Nanni C, Zamagni E, Versari A, et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2015; 43: 414-21])이 사용한 기준. 기준선 양성 병변은, CT에 의해 확인되고 적어도 두 개의 연이은 슬라이스 상에 존재하는 임의의 기저 병변의 존재 또는 부재 하에 골 내 흡수가 증가된 병소 영역의 존재에 의해 확인되었다. 대안적으로, SUV max= 1 cm 초과 크기의 골 용해성 CT 영역 내에서 2.5, 또는 SUV max=1 cm 이하의 크기의 골 용해성 CT 영역 내에서 1.5는 양성으로 간주되었다. 영상화는 MRD 음성이 MFC 또는 NGS에 의해 결정된 후에 수행되어야 한다. ‖다발성 골수종에 대한 국제 공통 반응 기준(문헌[Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al, Leukemia 2006; 20: 1467-73])으로부터 얻어짐. 소수 반응의 정의 및 설명은 Rajkumar 등의 문헌[Rajkumar SV, Harousseau JL, Durie B, et al, Blood 2011; 117: 4691-95]으로부터 얻어짐. 질환을 측정하는 유일한 방법이 혈청 FLC 수준에 의한 것인 경우, 완전 반응은 앞서 열거된 완전 반응 기준 외에 0.26 내지 1.65의 정상 FLC 비율로 정해질 수 있다. 그러한 환자에서 매우 우수한 부분 반응에는 관여 FLC 수준과 비관여 FLC 수준 간의 차이의 90% 이상의 감소가 요구된다. 모든 반응 카테고리에는 임의의 새로운 요법을 시행하기 전 임의의 시간에 이루어지는 두 개의 연이은 평가가 요구되고, 방사선학적 연구가 수행된 경우, 모든 카테고리에는 또한 진행성 또는 새로운 골 병변 또는 골수외 형질세포종의 공지된 증거가 요구되지 않는다. 방사선학 연구에는 이러한 반응 요건을 만족시킬 것이 요구되지 않는다. 골수 평가는 확인될 필요가 없다. 안정 질환을 제외한 각 카테고리는 확인 검사가 수행될 때까지 비확인된 것으로 간주될 것이다. 초기 검사 일자는 반응 지속 기간과 같은 시간 의존적 결과의 평가에 대한 반응 일자로 간주된다. **혈청 FLC 수준 또는 FLC 비율에 관한 임상 용도와 관련된 모든 권고사항은 검증된 Freelite 검사(Binding Site, 영국 버밍엄 소재)로 얻어진 결과를 기초로 한다. ††면역조직화학에 대한 클론 세포의 존재/부재는 κ/λ/L 비율을 기준으로 한다. 면역조직화학에 의한 비정상 κ/λ 비율에는 분석을 위해 최소 100개의 형질 세포가 필요하다. 비정상 클론의 존재를 반영하는 비정상 비율은 4:1 초과 또는 1:2 미만의 κ/λ이다. ‡‡특히, 면역계의 올리고클론성 재구성과 흔히 관련된 통상적인 완전 반응을 달성한 환자의 환경에서, 치료 후 상이한 단일클론 단백질의 출현에 특별히 주의를 기울여야 한다. 이러한 밴드는 전형적으로 시간 경과에 따라 소실되며, 일부 연구에서 더 우수한 결과와 관련이 있었다. 또한, 단일클론 항체를 받는 환자에서 단일클론 IgG κ의 출현은 치료 항체와 구별되어야 한다. §§형질세포종 측정은 PET/CT의 CT 부분, 또는 MRI 스캔, 또는 적용 가능한 경우 전용 CT 스캔으로부터 이루어져야 한다. 피부 관여만이 있는 환자의 경우, 피부 병변은 자로 측정되어야 한다. 종양 크기의 측정은 SPD에 의해 결정될 것이다. ¶¶이전에 완전 반응을 달성하는 것으로 분류된 환자에서 단독의 양성 면역고정은 진행으로 간주되지 않을 것이다. 진행 및 무진행 생존까지의 시간 계산의 목적으로, 완전 반응을 달성했고 MRD-음성인 환자들은 진행성 질환에 대하여 열거된 기준을 이용하여 평가되어야 한다. 완전 반응으로부터의 재발 또는 MRD로부터의 재발에 대한 기준은 무질환 생존을 계산할 때에만 이용되어야 한다. |||값이 외사의 재량에 따라 거짓 결과라고 여겨지는 경우(예를 들어, 가능한 실험실 오류), 그 값은 최저값을 결정할 때 고려되지 않을 것이다.

[0636] 다발성 골수종 및 관련 질환의 표준 치료는 화학요법, 줄기 세포 이식(자가 또는 동종이계), 방사선 요법, 및 기타 약물 요법을 포함한다. 자주 사용되는 항-골수종 약물은 알킬화제(예를 들어, 벤다무스틴, 시클로포스파미드 및 멜팔란), 프로테아좀 억제제(예를 들어, 보르테조밉), 코르티코스테로이드(예를 들어, 덱사메타손 및 프레드니손), 및 면역조절제(예를 들어, 탈리도미드 및 레날리도미드 또는 레블리미드(Revlimid®), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 비포스포네이트 약물이 또한 종종 골 손실을 예방하기 위해 표준 항-MM 치료와 병용 투여된다. 65세 내지 70세가 넘는 연령의 환자는 줄기 세포 이식의 후보가 될 가능성이 낮다. 일부 경우, 이중 자가 줄기 세포 이식은 일차 이식에 대한 차선적인 반응을 나타내는 60세 미만의 환자를 위한 선택이다. 본 발명의 조성물 및 방법은 다발성 골수종에 대한 임의의 현재 처방되는 치료와 병용 투여될 수 있다.

[0637] BCMA와 관련된 질환 또는 장애의 또 다른 예로는 호지킨 림프종 및 비-호지킨 림프종이 있다(문헌[Chiu et al., *Blood*. 2007, 109(2):729-39]; 문헌[He et al., *J Immunol.* 2004, 172(5):3268-79] 참조).

[0638] 호지킨병으로도 알려진 호지킨 림프종(HL)은 백혈구, 또는 림프구로부터 유래된 림프계의 암이다. 림프종을 포함하는 비정상 세포는 리드-슈테른베르그 세포(Reed-Sternberg cell)라 불린다. 호지킨 림프종에서, 암은 하나의 림프절 군에서 또 다른 림프절 군으로 확산된다. 호지킨 림프종은 리드-슈테른베르그 세포 형태 및 (림프절 생검을 통해 결정된) 리드-슈테른베르그 세포 주위의 세포 조성에 기반하여 4개의 병리학적 하위유형으로 하위분류될 수 있다: 결절성 경화형 HL, 혼합-세포질 하위유형, 림프구-풍부형 또는 림프구 우위형, 림프구 고갈형. 일부 호지킨 림프종은 또한 결절성 림프구 우위형 호지킨 림프종일 수 있거나, 불특정일 수 있다. 호지킨 림프종의 증상 및 징후에는 목, 겨드랑이, 또는 사타구니의 림프절에서의 무통증 붓기, 열, 도한, 체중 감소, 피로, 가려움, 또는 복통이 포함된다.

[0639] 비-호지킨 림프종(NHL)은 호지킨 림프종 이외의 임의의 종류의 림프종을 포함하는 다양한 혈액암 군을 포함한다. 비-호지킨 림프종의 하위유형은 주로 세포 형태, 염색체 이상, 및 표면 마커에 의해 분류된다. NHL

하위유형(또는 NHL-관련 암)은 B 세포 림프종, 예컨대, 버킷 림프종(그러나 이에 한정되지 않음), B-세포 만성 림프구성 백혈병(B-CLL), B-세포 전림프구성 백혈병(B-PLL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL)(예를 들어, 혈관내 거대 B-세포 림프종 및 원발성 종격동 B-세포 림프종), 여포성 림프종(예를 들어, 여포 중심 림프종, 여포성 소 절단 세포), 모발 세포 백혈병, 고등급 B-세포 림프종(버킷 유사), 림프형질세포 림프종(발덴스트롬 마크로글로불린혈증), 맨틀 세포 림프종, 변연부 B-세포 림프종(예를 들어, 결절외 변연부 B-세포 림프종 또는 점막-관련 림프 조직(MALT) 림프종, 결절 변연부 B-세포 림프종, 및 비장 변연부 B-세포 림프종), 형질세포종/골수종, 전구체 B-림프아구 백혈병/림프종(PB-LBL/L), 원발성 중추신경계(CNS) 림프종, 원발성 안구내 림프종, 소림프구 림프종(SLL); 및 T 세포 림프종, 예컨대, 역형성 대세포림프종(ALCL), 성인 T-세포 림프종/백혈병(예를 들어, 무증상, 만성, 급성 및 림프종성), 혈관중심성 림프종, 혈관면역모구 T-세포 림프종, 피부 T-세포 림프종(예를 들어, 균상식육종, 세자리 증후군 등), 결절외 자연 살해/T-세포 림프종(비강형), 소장병증형 장 T-세포 림프종, 대형 과립 림프구 백혈병, 전구체 T-림프아구 림프종/백혈병(T-LBL/L), T-세포 만성 림프구성 백혈병/전림프구성 백혈병(T-CLL/PLL), 및 불특정 말초 T-세포 림프종(그러나 이에 한정되지 않음)을 포함한다. 호지킨 림프종의 증상 및 징후에는 목, 겨드랑이, 또는 사타구니의 림프절에서의 무통증 붓기, 열, 도한, 체중 감소, 피로, 가려움, 복통, 기침, 또는 흉통이 포함된다.

[0640] 병기 결정은 호지킨 림프종과 비-호지킨 림프종 둘 모두에 대해 동일하며, 체내 암 세포의 확산 정도를 나타낸다. 병기 I에서, 림프종 세포는 하나의 림프절 군에 있다. 병기 II에서, 림프종 세포는 적어도 두 개의 림프절 군에 존재하지만, 두 군 모두가 격막의 동일한 쪽에, 또는 조직 또는 기관의 한 부분 및 격막의 동일한 쪽에서 그러한 기관 부근의 림프절에 있다. 병기 III에서, 림프종 세포는 격막의 양쪽 상의 림프절에, 또는 이러한 림프절 군 부근 또는 비장에서 조직 또는 기관의 한 부분에 있다. 병기 IV에서, 림프종 세포는 적어도 하나의 기관 또는 조직의 여러 부분에서 발견되거나, 또는 림프종 세포는 격막의 다른 쪽 상의 림프절 및 기관에서 발견된다. 로마 숫자 병기 결정 명명 외에도, 문자 A, B, E 및 S로 병기가 또한 기술될 수 있고, 여기서 A는 증상이 없는 환자를 나타내고, B는 증상이 있는 환자를 나타내며, E는 림프종이 림프계 외부 조직에서 발견되는 환자를 나타내고, S는 비장에서 림프종이 발견된 환자를 나타낸다.

[0641] 호지킨 림프종은 일반적으로 방사선 요법, 화학요법, 또는 조혈 줄기 세포 이식으로 치료된다. 비-호지킨 림프종을 위한 가장 일반적인 요법은 R-CHOP인데, 이는 네 개의 상이한 화학요법제(시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및 프레니솔론) 및 리툭시맙(Rituxan®))으로 이루어진다. NHL을 치료하기 위해 일반적으로 사용되는 기타 요법에는 기타 화학치료제, 방사선 요법, 줄기 세포 이식(자가 또는 동종이계 골수 이식), 또는 생물학적 요법, 예컨대, 면역요법이 포함된다. 생물학적 치료제의 다른 예에는 리툭시맙(Rituxan®), 토시투모맙(Bexxar®), 에프라투주맙(LymphoCide®), 및 알렘투주맙(MabCampath®)이 포함되지만, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 조성물 및 방법은 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종에 대한 임의의 현재 처방되는 치료와 병용 투여될 수 있다.

[0642] BCMA 발현은 또한 림프형질세포 림프종(LPL)으로도 알려진 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(WM)과 관련이 있다. (문헌[Elsawa et al., *Blood*. 2006, 107(7):2882-8] 참조). 발덴스트롬 마크로글로불린혈증은 이전에 다발성 골수종과 관련이 있는 것으로 여겨졌지만, 보다 최근에는 비-호지킨 림프종의 하위유형으로 분류되었다. WM은 빈혈 및 과량의 파라단백질, 또는 면역글로불린 M(IgM)의 생산을 초래하는 제어되지 않은 B-세포 림프구 증식을 특징으로 하는데, 이는 혈액을 걸쭉하게 만들고 과점도 증후군을 초래한다. WM의 다른 증상 또는 징후에는 열, 도한, 피로, 빈혈, 체중 감소, 림프절병증 또는 비장 비대, 흐린 시력, 어지러움, 코피, 잇몸 출혈, 비정상적인 타박상, 신장 손상 또는 신부전, 아밀로이드증, 또는 말초 신경병증이 포함된다.

[0643] WM에 대한 표준 치료는 특히 리툭시맙(Rituxan®)으로의 화학요법으로 이루어진다. 클로람부실(Leukeran®), 시클로포스파미드(Neosar®), 플루다라빈(Fludara®), 클라드리빈(Leustatin®), 빈크리스틴, 및/또는 탈리도미드와 같은 기타 화학치료제가 병용될 수 있다. 코르티코스테로이드, 예컨대, 프레드니손은 또한 화학요법과 병용 투여될 수 있다. 혈장분리반출술, 또는 혈장 교환은 혈액으로부터 파라단백질을 제거함으로써 일부 증상을 완화시키기 위해 환자의 치료 전반에 걸쳐 흔히 이용된다. 일부 경우에, 줄기 세포 이식은 일부 환자를 위한 선택이다.

[0644] BCMA와 관련된 질환 또는 장애의 또 다른 예에는 뇌암이 있다. 구체적으로, BCMA의 발현은 성상세포종 또는 교모세포종과 관련되어 왔다(문헌[Deshayes et al, *Oncogene*. 2004, 23(17):3005-12], 문헌[Pelekanou et al., *PLoS One*. 2013, 8(12):e83250] 참조). 성상세포종은 뇌에서 신경교 세포의 유형인 성상세포로부터 발생된 종양이다. 교모세포종(교모세포종 다형성 또는 GBM으로도 알려짐)은 성상세포종의 가장 악성 형태이며, 가장 진행된 단계의 뇌암으로 여겨진다(병기 IV). 두 가지 변종의 교모세포종인 거대 세포 교모세포종 및 신경아교육종이 있

다. 다른 성상세포종은 청소년 모양세포 성상세포종(juvenile pilocytic astrocytoma; JPA), 원섬유 성상세포종(fibrillary astrocytoma), 다형성 황색 성상세포종(pleomorphic xantroastrocytoma; PXA), 배아형성장애 신경상피 종양(desembryoplastic neuroepithelial tumor; DNET), 및 퇴화형 성상세포종(anaplastic astrocytoma; AA)을 포함한다.

[0645] 교모세포종 또는 성상세포종과 관련된 증상 또는 징후에는 뇌압 증가, 두통, 발작, 기억 상실, 행동 변화, 신체 한 쪽의 운동 또는 감각 상실, 언어 기능 장애, 인지 장애, 시각 손상, 오심, 구토, 및 팔 또는 다리 마비가 포함된다.

[0646] 종양의 외과적 제거(또는 절제)는 정상적인 주변 뇌에 손상을 주지 않거나 최소한의 손상으로 가능한 많은 신경아교종의 제거를 위한 표준 치료이다. 방사선 요법 및/또는 화학요법은 종종 임의의 잔존 암세포 또는 위성 병변으로부터 재발 질환을 억제하거나 지연시키기 위해 수술 후에 이용된다. 방사선 요법은 전뇌 방사선요법(통상적인 외부 빔 방사선), 표적화된 3차원 입체조형 방사선요법, 및 표적화된 방사성핵종을 포함한다. 교모세포종을 치료하기 위해 흔히 사용되는 화학치료제는 테모졸로미드, 게피티닙 또는 엘로티닙, 및 시스플라틴을 포함한다. 혈관형성 억제제, 예컨대, 베바시주맙(Avastin®)이 또한 화학요법 및/또는 방사선요법과 흔히 병용된다.

[0647] 보조 치료가 또한 신경 증상을 완화시키고 신경 기능을 개선하기 위해 자주 사용되며, 본원에 기술된 임의의 암 요법과 병용 투여된다. 일차 보조제는 항경련제 및 코르티코스테로이드를 포함한다. 따라서, 본 발명의 조성물 및 방법은 교모세포종 또는 성상세포종을 치료하기 위해 임의의 표준 또는 보조 치료와 병용될 수 있다.

[0648] BCMA 발현과 관련된 비암 관련 질환 및 장애는 또한 본원에 개시된 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있다. BCMA 발현과 관련된 비암 관련 질환 및 장애의 예는 바이러스 감염; 예를 들어, HIV, 진균 감염, 예를 들어, C. 네오포르만스; 과민 대장 증후군; 궤양성 대장염 및 점막 면역과 관련된 장애를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0649] 본 발명의 CAR 변형 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)는 단독으로, 또는 희석제 및/또는 다른 성분, 예컨대 IL-2 또는 다른 사이토카인 또는 세포 집단과 조합하여 제약 조성물로서 투여될 수 있다.

[0650] 본 발명은 암을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 일 양태에서, 암은 백혈병 또는 림프종인 혈액암을 포함하지만 이에 한정되지 않는 혈액암이다. 일 양태에서, 본 발명의 CAR 발현 세포(예를 들어, CART 세포 또는 CAR 발현 NK 세포)는, 예를 들어 다음과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 암 및 악성 종양의 치료에 사용될 수 있다: 예를 들어, B-세포 급성 림프성 백혈병("BALL"), T-세포 급성 림프성 백혈병("TALL"), 급성 림프성 백혈병(ALL)을 포함하지만 이에 한정되지 않는 급성 백혈병; 예를 들어, 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 림프구성 백혈병(CLL)을 포함하지만 이에 한정되지 않는 하나 이상의 만성 백혈병; 예를 들어, B 세포 전림프구성 백혈병, 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물, 버킷 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 모발상 세포 백혈병, 소세포- 또는 대세포-여포성 림프종, 악성 림프증식성 병태, MALT 림프종, 맨틀 세포 림프종, 변연부 림프종, 다발성 골수종, 골수이형성증 및 골수이형성 증후군, 비-호지킨 림프종, 형질모세포성 림프종, 형질세포양 수지상 세포 신생물, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 및 골수성 혈액 세포의 비효과적인 생산(또는 이형성증)에 의해 통합된 다양한 혈액 병태의 집합인 "전백혈병" 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는 추가의 혈액암 또는 혈액 병태. 나아가, BCMA의 발현과 관련된 질환은, 예를 들어 BCMA를 발현하는 비정형 및/또는 비전형 암, 악성 종양, 전암성 병태 또는 증식성 질환을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0651] 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 형질세포 증식성 장애, 예를 들어 무증상 골수종(무증상 다발 골수종 또는 무통성 골수종), 미결정 유의성의 단일클론 감마병증(MGUS), 발덴스트롬의 마크로글로불린혈증, 형질세포종(예를 들어, 형질세포 질환, 고립성 골수종, 고립성 형질세포종, 골수외 형질세포종, 및 다발성 형질세포종), 전신 아밀로이드 경쇄 아밀로이드증, 및 POEMS 증후군(크로우·후카세 증후군, 타카츠키병, 및 PEP 증후군으로도 알려져 있음)을 포함하나 이에 한정되지 않는 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0652] 구현예에서, 본원에 기술된 조성물은 암, 예를 들어, 본원에 기술된 암, 예를 들어, 전립선암(예를 들어, 거세 저항성 또는 요법 저항성 전립선암, 또는 전이성 전립선암), 췌장암, 또는 폐암을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 질환을 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0653] 본 발명은 또한 BCMA 발현 세포 집단을 감소시키거나 이의 증식을 억제하는 방법을 제공하며, 방법은 BCMA 발현 세포에 결합하는 본 발명의 항-BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 세포 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)와 BMCA발현 세포를 포함하는 세포의 집단을 접촉시키는 단계를 포함한다. 특정 양태에서, 본 발명은 BCMA를 발현하는 암 세포의 집단을 감소시키거나 이의 증식을 억제하는 방법을 제공하며, 방법은 BCMA 발현 세포에 결합하

는 본 발명의 항-BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 세포 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)와 BMCA 발현 암 세포 집단을 접촉시키는 단계를 포함한다. 일 양태에서, 본 발명은 BCMA를 발현하는 암 세포의 집단을 감소시키거나 이의 증식을 억제하는 방법을 제공하며, 방법은 BCMA 발현 세포에 결합하는 본 발명의 항-BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 세포 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)와 BMCA 발현 암 세포 집단을 접촉시키는 단계를 포함한다. 특정 양태에서, 본 발명의 항-BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 세포 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)는 골수성 백혈병, 또는 BCMA 발현 세포와 관련된 또 다른 암을 앓는 대상체 또는 이를 위한 동물 모델에서, 음성 대조군에 비해 세포 및/또는 암 세포의 수량, 수, 양 또는 백분율을 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 65%, 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 감소시킨다. 일 양태에서, 대상체는 인간이다.

[0654] 본 발명은 또한 BCMA 발현 세포와 관련된 질환(예를 들어, BCMA를 발현하는 혈액암 또는 비정형 암)의 예방, 치료 및/또는 관리 방법을 제공하며, 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 BCMA 발현 세포에 결합하는 본 발명의 항-BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 세포 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)를 투여하는 단계를 포함한다. 일 양태에서, 대상체는 인간이다. BCMA 발현 세포와 관련된 장애의 비-제한적 예는 바이러스 또는 진균 감염, 및 점막 면역과 관련된 장애를 포함한다.

[0655] 본 발명은 또한 BCMA 발현 세포와 관련된 질환의 예방, 치료 및/또는 관리 방법을 제공하며, 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 BCMA 발현 세포에 결합하는 본 발명의 항-BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 세포 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)를 투여하는 단계를 포함한다. 일 양태에서, 대상체는 인간이다.

[0656] 본 발명은 BCMA 발현 세포와 관련된 암의 재발의 예방 방법을 제공하며, 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 BCMA 발현 세포에 결합하는 본 발명의 항-BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 세포 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)를 투여하는 단계를 포함한다. 일 양태에서, 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 BCMA 발현 세포에 결합하는, 유효량의, 본원에 기술된 항-BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 세포 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)를, 유효량의 또 다른 요법과 병용 투여하는 단계를 포함한다.

[0657] **병용 요법**

[0658] 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 다른 공지된 작용제 및 요법과 병용될 수 있다.

[0659] 본원에 기술된 CAR 발현 세포 및 적어도 하나의 추가 치료제는 동시에, 동일한 조성물 내에 또는 개별 조성물 내에, 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 순차적인 투여를 위해, 본원에 기술된 CAR 발현 세포가 먼저 투여되고, 추가의 작용제가 두 번째로 투여될 수 있거나, 투여 순서가 바뀔 수 있다.

[0660] CAR 요법 및/또는 다른 치료제, 절차 또는 양식은 활동성 장애의 기간 동안, 또는 관해의 기간 또는 덜 활동성인 질환의 기간 동안 투여될 수 있다. CAR 요법은 장애의 다른 치료 전, 치료와 동시에, 치료 후, 또는 관해 동안 투여될 수 있다.

[0661] 조합하여 사용되는 경우에, CAR 요법 및 추가의 작용제(예를 들어 제2 또는 제3 작용제), 또는 이들 전부는 개별적으로, 예를 들어 단일요법제로서 사용되는 각각의 작용제의 양 또는 투여량보다 높거나, 낮거나, 또는 동일한 양 또는 용량으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, CAR 요법, 추가의 작용제(예를 들어 제2 또는 제3 작용제), 또는 이들 전부의 투여되는 양 또는 투여량은 개별적으로, 예를 들어 단일요법제로서 사용되는 각각의 작용제의 양 또는 투여량보다 낮다(예를 들어 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 또는 적어도 50% 낮다). 다른 구현예에서, CAR 요법, 추가의 작용제(예를 들어, 제2 또는 제3 작용제), 또는 이들 전부의, 원하는 효과(예를 들어 암의 치료)를 발생시키는 양 또는 투여량은 개별적으로, 예를 들어 단일요법제로서 사용되는 각각의 작용제가 동일한 치료 효과를 달성하는 데 필요한 양 또는 투여량보다 낮다(예를 들어, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 또는 적어도 50% 낮다).

[0662] 추가의 양태에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 수술, 화학요법, 방사선, 면역억제제, 예컨대 시클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 미코페놀레이트, 및 FK506, 항체, 또는 다른 면역제거제, 예컨대 CAMPATH, 항-CD3 항체 또는 다른 항체 요법, 시톡신, 플루다라빈, 시클로스포린, FK506, 라파마이신, 미코페놀산, 스테로이드, FR901228, 사이토카인, 및 방사선조사, 쾝티드 백신, 예컨대 문헌[Izumoto et al. 2008 J Neurosurg 108:963-971]에 기술된 것과 조합하여 치료 요법에서 사용될 수 있다.

[0663] 특정 예에서, 본 발명의 화합물은 다른 치료제, 예컨대 다른 항암제, 항알러지제, 항오심제(또는 항구토제), 통증 완화제, 세포보호제 및 이의 조합과 조합된다.

[0664] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 제1 CAR 발현 세포, 예컨대, 본원에 기술된 BCMA CAR 발현 세포는 제2 CAR 발현 세포와 조합하여 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 CAR 발현 세포는 상이한 항-BMCA 결합 도메인, 예컨대, 제1 CAR 발현 세포에 의해 발현된 CAR 내의 항-BCMA 결합 도메인과 상이한 본원에 기술된 항-BCMA 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현한다. 일부 구현예에서, 제2 CAR 발현 세포는 BCMA 이외의 항원(예를 들어, CD19, CD20, CS-1, 카파 경쇄, CD139, 루이스 Y 항원, 또는 CD38)을 표적화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 CAR을 발현한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 제1 CAR 발현 세포, 예컨대, 본원에 기술된 BCMA CAR 발현 세포는 CD19 CAR을 포함하는 제2 CAR 발현 세포와 조합하여 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 BCMA CAR 발현 세포는 본원에 기술된 BCMA 관련 암, 예컨대, 다발성 골수종을 치료하기 위하여 CD19 CAR 발현 세포와 조합하여 사용된다. 일부 구현예에서, 다발성 골수종은 CD19-음성형, 예컨대, 유세포 분석법, RT-PCR, 또는 유세포 분석법과 RT-PCR 둘 다에 의해 검출 시, CD19-음성 표현형을 갖는 대부분(예컨대, 적어도 98%, 99%, 99.5%, 99.9%, 또는 99.95%)의 신생물성 형질 세포를 갖는다. CD19 CAR은 CD19-음성 다발성 골수종에 대해서조차 효과적일 수 있다. 이론에 구애되고자 함이 없이, CD19 CAR은 본원에 기술된 분석법의 검출 역치 아래 수준의 CD19를 발현하는 세포를 표적화함으로써, 또는 신생물성 세포를 지지하는 비-신생물성 세포를 표적화함으로써, 신생물성 세포의 작지만 중요한 CD19-양성 집단 상에서 작용할 수 있다. 구현예에서, CD19 CAR은 B 세포, 예를 들어, B 조절 B 세포를 제거할 수 있다.

[0665] 예를 들어, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 제1 CAR 발현 세포, 예를 들어, BCMA CAR 발현 세포, 및 본원에 기술된 제2 CAR 발현 세포, 예를 들어, CD19 CAR 발현 세포는, 동일한 조성물에서 제조되고, 동시에 투여된다. 또 다른 구현예에서, 본원에 기술된 제1 CAR 발현 세포, 예를 들어, BCMA CAR 발현 세포, 및 본원에 기술된 제2 CAR 발현 세포, 예를 들어, CD19 CAR 발현 세포는, 별개의 조성물에서 제조되고, 별개의 조성물은 동시에 또는 순차적으로 투여된다. BCMA CAR 발현 세포 및 제2 CAR 발현 세포가 별개의 조성물에서 제조될 때, BCMA CAR 발현 세포가 첫 번째로 투여될 수 있고, 제2 CAR 발현 세포가 두 번째로 투여될 수 있거나, 투여 순서가 바뀔 수 있다.

[0666] 일부 구현예에서, CD19 CAR는 CD19 CAR, 예를 들어, 2014년 5월 15일 출원된 국제 공개 특허 제2014/153270호(전체가 본원에 참고로 포함됨)에 기술된 인간화 CD19 CAR 또는 이와 적어도 95%, 예를 들어, 95 내지 99% 동일한 서열이다. 일부 구현예에서, CD19 CAR 구축물은 PCT 공개 제2012/079000호(전체가 본원에 참고로 포함됨)에 제공된 CAR19 구축물 또는 이와 적어도 95%, 예를 들어, 95 내지 99% 동일한 서열이다. 일부 구현예에서, 항-CD19 결합 도메인은 국제 공개 제2012/079000호에 기재된 scFv, 또는 이와 적어도 95%, 예를 들어, 95 내지 99% 동일한 서열이다.

[0667] 구현예에서, 제1 CAR 발현 세포는 대상체에게 투여되고, 제2 CAR 발현 세포는 이러한 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 제1 CAR 발현 세포는 CD27 공동자극 도메인 및 CD3제타(돌연변이체 또는 야생형) 일차 신호전달 도메인을 포함하는 CAR(예를 들어, BCMA 또는 CD19 CAR)을 포함한다. 구현예에서, 제2 CAR 발현 세포는 4-1BB 공동자극 도메인 및 CD3제타(돌연변이체 또는 야생형) 일차 신호전달 도메인을 포함하는 CAR(예를 들어, BCMA CAR)을 포함한다. 이론에 구애되고자 함이 없이, 구현예에서, 제1 CAR 발현 세포는 제2 CAR 발현 세포보다 독성이 적을 수 있고 종양의 부피를 축소하는 데 사용될 수 있다.

[0668] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 화학요법제와 조합하여 사용될 수 있다. 예시적인 화학요법제는 안트라사이클린(예컨대, 독소루비신(예를 들어, 리포솜성 독소루비신)), 빈카 알칼로이드(예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 비노렐빈), 알킬화제(예를 들어, 시클로포스파미드, 데카르바진, 멜팔란, 이포스파미드, 테모졸로미드), 면역 세포 항체(예를 들어, 알렘투자맙, 젬투주맙, 리툭시맙, 토시투모맙), 대사길항물질(예를 들어, 엽산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나아제 억제제(예를 들어, 플루다라빈) 포함), mTOR 억제제, TNFR 글루코코르티코이드 유도된 TNFR 관련 단백질(GITR) 작용제, 프로테아좀 억제제(예를 들어, 아클라시노마이신 A, 글리오톡신 또는 보르테조밉), 면역조절제, 예컨대 탈리도미드 또는 탈리도미드 유도체(예를 들어 레날리도미드)를 포함한다.

[0669] 병용 요법에서의 사용을 위해 고려되는 일반적인 화학요법제는 아나스트로졸(Arimidex®), 비칼루타미드(Casodex®), 블레오마이신 설페이트(Blenoxane®), 부설판(Myleran®), 부설판 주사제(Busulfex®), 카페시타빈(Xeloda®), N4-펜톡시카르보닐-5-데옥시-5-플루오로시티딘, 카르보플라틴(Paraplatin®), 카르무스틴(BiCNU®), 클로람부실(Leukeran®), 시스플라틴(Platinol®), 클라드리빈(Leustatin®), 시클로포스파미드(Cytoxan® 또는 Neosar®), 사이타라빈, 사이토신 아라비노시드(Cytosar-U®), 사이타라빈 리포솜 주사제(DepoCyt®), 다카르바진(DTIC-Dome®), 닥티노마이신(Actinomycin D, Cosmegan), 다우노루비신 하이드로클로라이드(Cerubidine®), 다우노루비신 시트레이트 리포솜 주사제(DaunoXome®), 덱사메타손, 도세탁셀(Taxotere®), 독

소루비신 히드로클로라이드(Adriamycin®, Rubex®), 에토포시드(Vepesid®), 플루다라빈 포스페이트(Fludara®), 5-플루오로우라실(Adrucil®, Efudex®), 플루타미드(Eulexin®), 테자시티빈, 젬시타빈(디플루오로데옥시시티딘), 하이드록시우레아(Hydrea®), 아이다루비신(Idamycin®), 이포스파미드(IFEX®), 이리노테칸(Camptosar®), L-아스파라기나아제(ELSPAR®), 류코보린 칼슘, 멜팔란(Alkeran®), 6-머캅토퓨린(Purinethol®), 메토트렉세이트(Folex®), 미톡산트론(Novantrone®), 마일로타그, 파클리탁셀(Taxol®), 피닉스(Yttrium90/MX-DTPA), 펜토스타틴, 카무스틴 임플란트가 있는 폴리페프로산 20(Gliadel®), 타목시펜 시트레이트(Nolvadex®), 테니포시드(Vumon®), 6-티오구아닌, 티오테파, 티라파자민(Tirazone®), 주사용 토포테칸 하이드로클로라이드(Hycamptin®), 빈블라스틴(Velban®), 빈크리스틴(Oncovin®), 및 비노렐빈(Navelbine®)을 포함한다.

[0670] 본 발명의 화합물과의 조합을 위하여 특히 관심이 있는 항암제는 안트라사이클린; 알킬화제; 대사길항물질; 칼슘 의존성 포스파타제 칼시뉴린 또는 p70S6 키나제 FK506을 저해하거나 p70S6 키나제를 저해하는 약물; mTOR 억제제; 면역조절제; 안트라사이클린; 빈카알칼로이드; 프로테아좀 억제제; GITR 작용제; 단백질 티로신 포스파타제 억제제; CDK4 키나제 억제제; BTK 억제제; MKN 키나제 억제제; DGK 키나제 억제제; 또는 종양세포붕괴성 바이러스를 포함한다.

[0671] 예시적인 알킬화제는 제한 없이, 질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 설포네이트, 니트로소우레아 및 트리아젠: 우라실 머스타드(Aminouracil Mustard®, Chlorethaminacil®, Demethyldopan®, Desmethyldopan®, Haemanthamine®, Nordopan®, Uracil nitrogen mustard®, Uracillost®, Uracilmostaza®, Uramustin®, Uramustine®), 클로르메틴(Mustargen®), 시클로포스파미드(Cytoxan®, Neosar®, Clafen®, Endoxan®, Procytox®, Revimmune™), 이포스파미드(Mitoxana®), 멜팔란(Alkeran®), 클로람부실(Leukeran®), 피포브로만(Amedel®, Vercyte®), 트리에틸렌멜라민(Hemel®, Hexalen®, Hexastat®), 트리에틸렌티오포스포라민, 테모졸로미드(Temodar®), 티오테파(Thioplex®), 부설판(Busilvex®, Myleran®), 카르무스틴(BiCNU®), 로무스틴(CeeNU®), 스트렙토조신(Zanosar®), 및 다카르바진(DTIC-Dome®)을 포함한다. 추가의 예시적인 알킬화제는 제한 없이, 옥살리플라틴(Eloxatin®); 테모졸로미드(Temodar® 및 Temodal®); 닥티노마이신(악티노마이신-D로도 알려짐, Cosmegen®); 멜팔란(L-PAM, L-사르콜리신, 및 페닐알라닌 머스타드로도 알려짐, Alkeran®); 알트레타민(헥사메틸멜라민(HMM)으로도 알려짐, Hexalen®); 카르무스틴(BiCNU®); 벤다무스틴(Treanda®); 부설판(Busulfex® and Myleran®); 카르보플라틴(Paraplatin®); 로무스틴(CCNU로도 알려짐, CeeNU®); 시스플라틴(CDDP로도 알려짐, Platinol® 및 Platinol®-AQ); 클로람부실(Leukeran®); 시클로포스파미드(Cytoxan® 및 Neosar®); 다카르바진(DTIC, DIC 및 이미다졸 카르복사미드로도 알려짐, DTIC-Dome®); 알트레타민(헥사메틸멜라민(HMM)으로도 알려짐, Hexalen®); 이포스파미드(Ifex®); 프레드누무스틴; 프로카르바진(Matulane®); 메클로레타민(질소 머스타드, 무스틴 및 메클로로에타민 하이드로클로라이드로도 알려짐, Mustargen®); 스트렙토조신(Zanosar®); 티오테파(티오포스포아미드, TESPA 및 TSPA로도 알려짐, Thioplex®); 시클로포스파미드(Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune®); 및 벤다무스틴 HCl(Treanda®)을 포함한다.

[0672] 예시적인 mTOR 억제제는, 예를 들어 템시롤리무스; 리다포롤리무스(공식적으로 데포롤리무스로서 공지됨, (1*R*,2*R*,4*S*)-4-[(2*R*)-2 [(1*R*,9*S*,12*S*,15*R*,16*E*,18*R*,19*R*,21*R*, 23*S*,24*E*,26*E*,28*Z*,30*S*,32*S*,35*R*)-1,18-디하이드록시-19,30-디메톡시-15,17,21,23,29,35-헥사메틸-2,3,10,14,20-펜타옥소-11,36-디옥사-4-아자트리시클로[30.3.1.$0^{4,9}$]헥사트리아콘타-16,24,26,28-테트라엔-12-일]프로필]-2-메톡시시클로헥실 디메틸포스피네이트, 또한 AP23573 및 MK8669로도 공지되고 국제 공개 제03/064383호에 기술됨); 에베롤리무스(Afinitor® 또는 RAD001); 라파마이신(AY22989, Sirolimus®); 시마피모드(CAS 164301-51-3); 엠시롤리무스, (5-{2,4-비스[(3*S*)-3-메틸모르폴린-4-일]피리도[2,3-*d*]피리미딘-7-일}-2-메톡시페닐)메탄올(AZD8055); 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-하이드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-*d*]피리미딘-7(8*H*)-온(PF04691502, CAS 1013101-36-4); 및 *N*^{2}-[1,4-디옥소-4-[[4-(4-옥소-8-페닐-4*H*-1-벤조피란-2-일)모르폴리늄-4-일]메톡시]부틸]-L-아르기닐글리실-L-α-아스파르틸L-세린-(서열번호 285), 내부 염(SF1126, CAS 936487-67-1), 및 XL765를 포함한다.

[0673] 예시적인 면역조절제는 예를 들어 아푸투주맙(Roche®로부터 입수 가능함); 페그필그라스팀(Neulasta®); 레날리도미드(CC-5013, Revlimid®); 탈리도미드(Thalomid®), 악티미드(CC4047); 및 IRX-2(인터류킨 1, 인터류킨 2, 및 인터페론 γ를 포함한 인간 사이토카인의 혼합물, CAS 951209-71-5, IRX Therapeutics로부터 입수 가능함)을 포함한다.

[0674] 예시적인 안트라사이클린은 예를 들어 독소루비신(Adriamycin® 및 Rubex®); 블레오마이신(lenoxane®); 다우

노루비신(다우노루비신 하이드로클로라이드, 다우노마이신, 및 루비도마이신 하이드로클로라이드, Cerubidine®); 다우노루비신 리포솜(다우노루비신 시트레이트 리포솜, DaunoXome®); 미톡산트론(DHAD, Novantrone®); 에피루비신(Ellence™); 이다루비신(Idamycin®, Idamycin PFS®); 미토마이신 C(Mutamycin®); 겔다나마이신; 헤르비마이신; 라비도마이신; 및 데스아세틸라비도마이신을 포함한다.

[0675] 예시적인 빈카 알칼로이드는 예를 들어 비노렐빈 타르트레이트(Navelbine®), 빈크리스틴(Oncovin®), 및 빈데신(Eldisine®)); 빈블라스틴(빈블라스틴 설페이트, 빈카류코블라스틴 및 VLB, Alkaban-AQ® 및 Velban®으로도 공지됨); 및 비노렐빈(Navelbine®)을 포함한다.

[0676] 예시적인 프로테오솜 억제제는 보르테조밉(Velcade®); 카르필조밉(PX-171-007, (*S*)-4-메틸-N-((*S*)-1-(((*S*)-4-메틸-1-((*R*)-2-메틸옥시란-2-일)-1-옥소펜탄-2-일)아미노)-1-옥소-3-페닐프로판-2-일)-2-((*S*)-2-(2-모르폴리노아세트아미도)-4-페닐부탄아미도)-펜탄아미드); 마리조밉(NPI-0052); 익사조밉 시트레이트(MLN-9708); 델란조밉(CEP-18770); 및 *O*-메틸-*N*-[(2-메틸-5-티아졸릴)카르보닐]-L-세릴-*O*-메틸-*N*-[(1*S*)-2-[(2*R*)-2-메틸-2-옥시라닐]-2-옥소-1-(페닐메틸)에틸]-L-세린아미드(ONX-0912)를 포함한다.

[0677] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 플루다라빈, 시클로포스파미드, 및/또는 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 플루다라빈, 시클로포스파미드, 및 리툭시맙(FCR)과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 예를 들어 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실(del(17p), 예를 들어 백혈병 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 구현예에서, 대상체는 면역글로불린 중쇄 가변 영역($Ig\mathrm{V_H}$) 유전자에서의 돌연변이를 포함하는 백혈병 세포를 포함한다. 다른 구현예에서, 대상체는 면역글로불린 중쇄 가변 영역($Ig\mathrm{V_H}$) 유전자에서의 돌연변이를 포함하는 백혈병 세포를 포함하지 않는다. 구현예에서, 플루다라빈은 약 10~50 mg/m²(예를 들어 약 10~15, 15~20, 20~25, 25~30, 30~35, 35~40, 40~45, 또는 45~50 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로 투여된다. 구현예에서, 시클로포스파미드는 약 200~300 mg/m²(예를 들어, 약 200~225, 225~250, 250~275, 또는 275~300 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로 투여된다. 구현예에서, 리툭시맙은 약 400~600 mg/m²(예를 들어, 400~450, 450~500, 500~550, 또는 550~600 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로 투여된다.

[0678] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 벤다무스틴 및 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 예를 들어 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실(del(17p), 예를 들어 백혈병 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 구현예에서, 대상체는 면역글로불린 중쇄 가변 영역($Ig\mathrm{V_H}$) 유전자에서의 돌연변이를 포함하는 백혈병 세포를 포함한다. 다른 구현예에서, 대상체는 면역글로불린 중쇄 가변 영역($Ig\mathrm{V_H}$) 유전자에서의 돌연변이를 포함하는 백혈병 세포를 포함하지 않는다. 구현예에서, 벤다무스틴은 약 70~110 mg/m²(예를 들어, 70~80, 80~90, 90~100, 또는 100~110 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로 투여된다. 구현예에서, 리툭시맙은 약 400~600 mg/m²(예를 들어, 400~450, 450~500, 500~550, 또는 550~600 mg/m²)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로 투여된다.

[0679] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 리툭시맙, 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및/또는 코르티코스테로이드(예를 들어, 프레드니손)와 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 리툭시맙, 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및 프레드니손(R-CHOP)과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 대상체는 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL)을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 부피가 크지 않은 제한된 병기의 DLBCL을 갖는다(예를 들어, 7 cm 미만의 크기/직경을 갖는 종양을 포함한다). 구현예에서, 대상체는 R-CHOP와 조합된 방사선으로 치료된다. 예를 들어, 대상체는 R-CHOP(예를 들어, 1~6 사이클, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 사이클의 R-CHOP), 이어서 방사선이 투여된다. 일부 경우에, 대상체는 방사선 다음에 R-CHOP(예를 들어, 1~6 사이클, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 사이클의 R-CHOP)가 투여된다.

[0680] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 에토포시드, 프레드니손, 빈크리스틴, 시클로포스파미드, 독소루비신, 및/또는 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 에토포시드, 프레드니손, 빈크리스틴, 시클로포스파미드, 독소루비신, 및 리툭시맙(EPOCH-R)과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 용량 조정 EPOCH-R(DA-EPOCH-R)과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 대상체는 B 세포 림프종, 예를 들어, Myc-재배열 침습 B 세포 림프종을 갖는다.

[0681] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 리툭시맙 및/또는 레날리도미드와 조합하여 대상체에게 투여된다. 레날리도미드 ((*RS*)-3-(4-아미노-1-옥소 1,3-디히드로-2*H*-이소인돌- 2-일)피페리딘-2,6-디온)은 면역조절제이다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 리툭시맙 및 레날리도미드와 조합하여 대상체에게

투여된다. 구현예에서, 대상체는 여포성 림프종(FL) 또는 맨틀 세포 림프종(MCL)을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 FI을 가지며, 이전에 암 요법으로 치료받은 바 없다. 구현예에서, 레날리도미드는 약 10~20 mg(예를 들어, 10~15 또는 15~20 mg)의 투여량으로, 예를 들어, 매일 투여된다. 구현예에서, 리툭시맙은 약 350~5500 mg/m^2(예를 들어, 350~375, 375~400, 400~425, 425~450, 450~475, 또는 475~500 mg/m^2)의 용량으로, 예를 들어 정맥 내 투여된다.

[0682] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 브렌툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 브렌툭시맙은 항-CD30 항체 및 모노메틸 아우리스타틴 E의 항체-약물 접합체이다. 구현예에서, 대상체는 호지킨 림프종(HL), 예를 들어 재발성 또는 불응성 HL을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 CD30+ HL을 포함한다. 구현예에서, 대상체는 자가 줄기 세포 이식(ASCT)을 받은 바 있다. 구현예에서, 대상체는 ASCT를 받은 바 없다. 구현예에서, 브렌툭시맙은 약 1~3 mg/kg(예를 들어 약 1~1.5, 1.5~2, 2~2.5, 또는 2.5~3 mg/kg)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로, 예를 들어 3주마다 투여된다.

[0683] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 브렌툭시맙 및 다카르바진과 조합하여, 또는 브렌툭시맙 및 벤다무스틴과 조합하여 대상체에게 투여된다. 다카르바진은 5-(3,3-디메틸-1-트리아제닐)이미다졸-4-카르복스아미드의 화학명을 갖는 알킬화제이다. 벤다무스틴은 4-[5-[비스(2-클로로에틸)아미노]-1-메틸벤즈이미다졸-2-일]부탄산의 화학명을 갖는 알킬화제이다. 구현예에서, 대상체는 호지킨 림프종 (HL)을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 이전에 암 요법으로 치료받은 바 없다. 구현예에서, 대상체는 적어도 60세, 예를 들어 60, 65, 70, 75, 80, 85세 이상이다. 구현예에서, 다카르바진은 약 300~450 mg/㎡(예를 들어 약 300~325, 325~350, 350~375, 375~400, 400~425, 또는 425~450 mg/㎡)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로 투여된다. 구현예에서, 벤다무스틴은 약 75~125 mg/㎡(예를 들어 75~100 또는 100~125 mg/㎡, 예를 들어 약 90 mg/㎡)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로 투여된다. 구현예에서, 브렌툭시맙은 약 1~3 mg/kg(예를 들어 약 1~1.5, 1.5~2, 2~2.5, 또는 2.5~3 mg/kg)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로, 예를 들어 3주마다 투여된다.

[0684] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 CD20 억제제, 예를 들어 항-CD20 항체(예를 들어 항-CD20 단일- 또는 이중특이적 항체) 또는 이의 단편과 조합하여 대상체에게 투여된다. 예시적인 항-CD20 항체는 리툭시맙, 오파투무맙, 오크렐리주맙, 벨투주맙, 오비누투주맙, TRU-015(Trubion Pharmaceuticals), 오카라투주맙, 및 Pro131921(Genentech)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 예를 들어 문헌[Lim et al. Haematologica. 95.1(2010):135-43] 참조.

[0685] 일부 구현예에서, 항-CD20 항체는 리툭시맙을 포함한다. 리툭시맙은 예를 들어 www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/103705s5311lbl.pdf에 기술된 바와 같은, CD20에 결합하고 CD20 발현 세포의 세포용해를 유발하는 키메라 마우스/인간 단클론 항체 IgG1 카파이다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 대상체는 CLL 또는 SLL을 갖는다.

[0686] 일부 구현예에서, 리툭시맙은 정맥 내로, 예를 들어 정맥 내 주입으로서 투여된다. 예를 들어 각각의 주입은 약 500~2000 mg(예를 들어 약 500~550, 550~600, 600~650, 650~700, 700~750, 750~800, 800~850, 850~900, 900~950, 950~1000, 1000~1100, 1100~1200, 1200~1300, 1300~1400, 1400~1500, 1500~1600, 1600~1700, 1700~1800, 1800~1900, 또는 1900~2000 mg)의 리툭시맙을 제공한다. 일부 구현예에서, 리툭시맙은 150 mg/m^2 내지 750 mg/m^2, 예를 들어 약 150 내지 175 mg/m^2, 175 내지 200 mg/m^2, 200 내지 225 mg/m^2, 225 내지 250 mg/m^2, 250 내지 300 mg/m^2, 300 내지 325 mg/m^2, 325 내지 350 mg/m^2, 350 내지 375 mg/m^2, 375 내지 400 mg/m^2, 400 내지 425 mg/m^2, 425 내지 450 mg/m^2, 450 내지 475 mg/m^2, 475 내지 500 mg/m^2, 500 내지 525 mg/m^2, 525 내지 550 mg/m^2, 550 내지 575 mg/m^2, 575 내지 600 mg/m^2, 600 내지 625 mg/m^2, 625 내지 650 mg/m^2, 650 내지 675 mg/m^2, 또는 675 내지 700 mg/m^2의 용량으로 투여되며, 여기서 m^2는 대상체의 체표면적을 나타낸다. 일부 구현예에서, 리툭시맙은 적어도 4일, 예를 들어 4, 7, 14, 21, 28, 35일, 이상의 투약 간격으로 투여된다. 예를 들어 리툭시맙은 적어도 0.5주, 예를 들어 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 이상의 투약 간격으로 투여된다. 일부 구현예에서, 리툭시맙은, 예를 들어 적어도 2주, 예를 들어 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20주 이상의 기간 동안 본원에 기술된 용량 및 투약 간격으로 투여된다. 예를 들어 리툭시맙은 치료 사이클당 적어도 총 4회 투약(예를 들어 치료 사이클당 적어도 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16회 이상의 투약) 동안 본원에 기술된 용량 및 투약 간격으로 투여된다.

[0687] 일부 구현예에서, 항-CD20 항체는 오파투무맙을 포함한다. 오파투무맙은 대략 149 kDa의 분자량을 갖는 항-CD20 IgG1κ 인간 단클론 항체이다. 예를 들어 오파투무맙은 트랜스제닉 마우스 및 하이브리도마 기술을 사용하여 생성되고, 재조합 뮤린 세포주(NS0)로부터 발현 및 정제된다. 예를 들어 www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125326lbl.pdf; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT01363128, NCT01515176, NCT01626352, 및 NCT01397591을 참조한다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 오파투무맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 대상체는 CLL 또는 SLL을 갖는다.

[0688] 일부 구현예에서, 오파투무맙은 정맥 내 주입으로 투여된다. 예를 들어 각각의 주입은 약 150~3000 mg(예를 들어 약 150~200, 200~250, 250~300, 300~350, 350~400, 400~450, 450~500, 500~550, 550~600, 600~650, 650~700, 700~750, 750~800, 800~850, 850~900, 900~950, 950~1000, 1000~1200, 1200~1400, 1400~1600, 1600~1800, 1800~2000, 2000~2200, 2200~2400, 2400~2600, 2600~2800, 또는 2800~3000 mg)의 오파투무맙을 제공한다. 구현예에서, 오파투무맙은, 예를 들어 약 11회 투약 동안, 예를 들어 24주 동안 약 300 mg의 출발 투여량, 이어서 2000 mg으로 투여된다. 일부 구현예에서, 오파투무맙은 적어도 4일, 예를 들어 4, 7, 14, 21, 28, 35일 이상의 투약 간격으로 투여된다. 예를 들어 오파투무맙은 적어도 1주, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 26, 28, 20, 22, 24, 26, 28, 30주 이상의 투약 간격으로 투여된다. 일부 구현예에서, 오파투무맙은 일정 기간, 예를 들어 적어도 1주, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 40, 50, 60주 이상, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개월 이상, 또는 1, 2, 3, 4, 5년 이상 동안 본원에 기술된 용량 및 투약 간격으로 투여된다. 예를 들어 오파투무맙은 치료 사이클당 적어도 총 2회 투약(예를 들어 치료 사이클당 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20회 이상의 투약) 동안 본원에 기술된 용량 및 투약 간격으로 투여된다.

[0689] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 오크렐리주맙을 포함한다. 오크렐리주맙은, 예를 들어 임상 시험 식별자 번호 NCT00077870, NCT01412333, NCT00779220, NCT00673920, NCT01194570, 및 문헌[Kappos et al. Lancet. 19.378(2011):1779-87]에 기술된 바와 같은 인간화 항-CD20 단클론 항체이다.

[0690] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 벨투주맙을 포함한다. 벨투주맙은 CD20에 대한 인간화 단클론 항체이다. 예를 들어 임상 시험 식별자 번호 NCT00547066, NCT00546793, NCT01101581, 및 문헌[Goldenberg et al. Leuk Lymphoma. 51(5)(2010):747-55]을 참조한다.

[0691] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 GA101을 포함한다. GA101(오비누투주맙 또는 RO5072759로도 불림)는 인간화되고 글리코-조작된 항-CD20 단클론 항체이다. 예를 들어 문헌[Robak. Curr. Opin. Investig. Drugs. 10.6(2009):588-96]; 임상 시험 식별자 번호: NCT01995669, NCT01889797, NCT02229422, 및 NCT01414205; 및 www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/125486s000lbl.pdf를 참조한다.

[0692] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 AME-133v를 포함한다. AME-133v(LY2469298 또는 오카라투주맙으로도 불림)는 리툭시맙과 비교하여 FcγRIIIa 수용체에 대해 증가된 친화도 및 증진된 항체 의존성 세포성 세포독성(ADCC) 활성을 갖는 CD20에 대한 인간화 IgG1 단클론 항체이다. 예를 들어 문헌[Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25]; 및 문헌[Forero-Torres et al. Clin Cancer Res. 18.5(2012):1395-403] 참조.

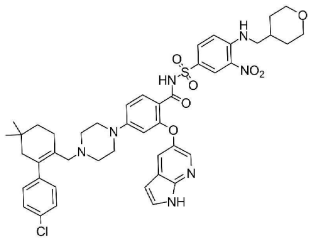
[0693] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 PRO131921을 포함한다. PRO131921은 리툭시맙과 비교하여 FcγRIIIa에 대한 보다 우수한 결합 및 증진된 ADCC를 갖도록 조작된 인간화 항-CD20 단클론 항체이다. 예를 들어 문헌[Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25]; 및 문헌[Casulo et al. Clin Immunol. 154.1(2014):37-46]; 및 임상 시험 식별자 번호 NCT00452127을 참조한다.

[0694] 일부 경우에, 항-CD20 항체는 TRU-015를 포함한다. TRU-015는 CD20에 대한 항체의 도메인으로부터 유래된 항-CD20 융합 단백질이다. TRU-015는 단클론 항체보다 작지만, Fc-매개 이펙터 기능을 보유한다. 예를 들어 문헌[Robak et al. BioDrugs 25.1(2011):13-25]을 참조한다. TRU-015는 인간 IgG1 힌지, CH2, 및 CH3 도메인에 연결된 항-CD20 단쇄 가변 단편(scFv)을 함유하지만, CH1 및 CL 도메인은 결여되어 있다.

[0695] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 항-CD20 항체는 치료제, 예를 들어 본원에 기술된 화학요법제(예를 들어 시톡산, 플루다라빈, 히스톤 데아세틸라아제 억제제, 탈메틸화제, 펩티드 백신, 항종양 항생제, 티로신 키나제 억제제, 알킬화제, 항미세관제 또는 항유사분열제), 항알러지제, 항오심제(또는 항구토제), 통증 완화제 또는 세포 보호제에 접합되거나 달리 결합된다.

[0696] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 B-세포 림프종 2(BCL-2) 억제제(예를 들어 베네토클락스, ABT-199 또는 GDC-0199로도 불림) 및/또는 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR

발현 세포는 베네토클락스 및 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 베네토클락스는 항아폽토시스 단백질, BCL-2를 억제하는 소분자이다. 베네토클락스 (4-(4-{[2-(4-클로로페닐)-4,4-디메틸시클로헥스-1-엔-1-일]메틸}피페라진-1-일)-N-({3-니트로-4-[(테트라히드로-2H-피란-4-일메틸)아미노]페닐}술포닐)-2-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-5-일옥시)벤즈아미드)의 구조는 하기에 예시되어 있다.



[0697]

[0698] 구현예에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 재발성 CLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다. 구현예에서, 베네토클락스는 약 15~600 mg(예를 들어 15~20, 20~50, 50~75, 75~100, 100~200, 200~300, 300~400, 400~500, 또는 500~600 mg)의 투여량으로, 예를 들어 매일 투여된다. 구현예에서, 리툭시맙은 약 350~550 mg/㎡(예를 들어 350~375, 375~400, 400~425, 425~450, 450~475, 또는 475~500 mg/㎡)의 투여량으로, 예를 들어 정맥 내로, 예를 들어 매월 투여된다.

[0699] 이론에 구애됨 없이, 일부 암에서, B 세포(예를 들어, B 조절 세포)가 T 세포를 억제할 수 있다고 여겨진다. 또한, 옥시플라틴(oxiplatin)과 B 세포 고갈제의 조합이 대상체에서 종양 크기를 감소시키고/감소시키거나 종양을 제거할 수 있다고 여겨진다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR(예를 들어, BCMA CAR) 발현 세포는 B 세포 고갈제(예를 들어, CD19 CAR 발현 세포, CD20 CAR 발현 세포, 리툭시맙, 오크렐리주맙, 에프라주투맙, 또는 벨리무맙) 및 옥시플라틴(oxiplatin)과 조합하여 투여된다. 구현예에서, 암 세포는 CD19 음성 또는 CD19 양성; 또는 BCMA 음성 또는 BMCA 양성일 수 있다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR(예를 들어, BCMA CAR) 발현 세포는 암, 예를 들어, 본원에 기술된 암, 예를 들어, 고형 암, 예를 들어, 전립선암, 췌장암, 또는 폐암을 치료하기 위해 B 세포 고갈제 및 옥시플라틴과 조합하여 투여된다.

[0700] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR(예를 들어, BCMA CAR) 발현 세포는 대상체에서 B 세포(예를 들어, BCMA, CD19, 및/또는 CD20를 발현하는, 예를 들어, 형질 세포 유사 표현형을 갖는 B 세포)를 고갈시킬 수 있다. 구현예에서, B 세포는 CD19 음성 또는 CD19 양성; 또는 BCMA 음성 또는 BMCA 양성일 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR(예를 들어, BCMA CAR) 발현 세포는 옥시플라틴과 조합하여 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 암, 예를 들어, 고형 암, 예를 들어, 전립선암, 췌장암, 또는 폐암을 치료하기 위해 옥시플라틴과 조합하여 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 종양용해 바이러스와 조합하여 투여된다. 구현예에서, 종양용해 바이러스는 암 세포 내에서 선택적으로 복제될 수 있고, 이의 사멸을 유발하거나 성장을 늦출 수 있다. 일부 경우에서, 종양용해 바이러스는 비암 세포에 대해서는 전혀 효과를 갖지 않거나 최소 효과를 갖는다. 종양용해 바이러스는 종양용해 아데노바이러스, 종양용해 단순 포진 바이러스, 종양용해 레트로바이러스, 종양용해 파르보바이러스, 종양용해 백시니아 바이러스, 종양용해 신드비스 바이러스, 종양용해 인플루엔자 바이러스 또는 종양용해 RNA 바이러스(예를 들어 종양용해 레오바이러스, 종양용해 뉴캐슬병 바이러스(NDV), 종양용해 홍역 바이러스 또는 종양용해 수포성 구내염 바이러스(VSV))를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0701] 일부 구현예에서, 종양용해 바이러스는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 공개 제2010/0178684 A1호에 기재된 바이러스, 예를 들어 재조합 종양용해 바이러스이다. 일부 구현예에서, 재조합 종양용해 바이러스는, 예를 들어 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 공개 제2010/0178684 A1호에 기재된 바와 같은, 면역 또는 염증 반응의 억제제를 암호화하는 핵산 서열(예를 들어 이종 핵산 서열)을 포함한다. 구현예에서, 재조합 종양용해 바이러스, 예를 들어 종양용해 NDV는 아폽토시스촉진 단백질(예를 들어 아폽틴), 사이토카인(예를 들어 GM-CSF, 인터페론-감마, 인터류킨-2 (IL-2), 종양 괴사 인자-알파), 면역글로불린(예를 들어 ED-B 피브로넥틴에 대한 항체), 종양 연관 항원, 이중특이적 어댑터 단백질(예를 들어 NDV HN 단백질 및 T 세포 공동자극 수용체, 예컨대 CD3 또는 CD28에 대해 지시된 이중특이적 항체 또는 항체 단편; 또는 NDV HN 단백질에 대해 지시된 인간 IL-2와 단일 쇄 항체 사이의 융합 단백질)을 포함한다. 예를 들어 문헌[Zamarin et al. Future Microbiol. 7.3(2012):347-67]을 참조하고, 그의 전문은 본원에 참조로 포함된다. 일부 구현예에서, 종양용해 바이러스는 미국 특허 제8591881 B2호, 미국 특허 공개 제2012/0122185 A1호, 또는 미국 특허 공개 제2014/0271677 A1호(각각은 그 전체가 본원에 참조로 포함됨)에 기술된 키메라 종양용해 NDV이다.

[0702] 일부 구현예에서, 종양용해 바이러스는 암 세포에서만 독점적으로 복제하도록 설계된 조건부 복제 아데노바이러스(CRAd)를 포함한다. 예를 들어 문헌[Alemany et al. Nature Biotechnol. 18(2000):723-27]을 참조한다. 일부 구현예에서, 종양용해 아데노바이러스는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 문헌[Alemany et al.]의 페이지 725의 표 1에 기술된 것을 포함한다.

[0703] 예시적인 종양용해 바이러스는 다음을 포함하나, 이에 한정되지 않는다:

[0704] 그룹 B 종양용해 아데노바이러스(ColoAd1)(PsiOxus Therapeutics Ltd.)(예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02053220 참조);

[0705] 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF)를 포함하는 아데노바이러스인 ONCOS-102(이전 명칭 CGTG-102)(Oncos Therapeutics)(예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01598129 참조);

[0706] 인간 PH20 히알루로니다제를 암호화하는 유전적으로 개질된 종양용해 인간 아데노바이러스인 VCN-01(VCN Biosciences, S.L.) (예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02045602 및 NCT02045589 참조);

[0707] 망막모세포종/E2F 경로 조절능력이 상실된 암 세포에서 선택적으로 복제하도록 변형된 야생형 인간 아데노바이러스 항원형 5(Had5)로부터 유래된 바이러스인 조건부 복제성 아데노바이러스 ICOVIR-5(Institut Català d'Oncologia)(예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01864759 참조);

[0708] 종양용해 아데노바이러스 ICOVIR5에 감염된 골수 유래 자가 간엽 줄기 세포(MSC)를 포함하는 Celyvir(Hospital Infantil Universitario Niρo Jesús, Madrid, Spain/ Ramon Alemany)(예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01844661 참조);

[0709] 인간 E2F-1 프로모터가 필수 E1a 바이러스 유전자의 발현을 유도함으로써 Rb 경로-결손 종양 세포에 대한 바이러스 복제 및 세포독성을 제한하는 조건부 복제성 종양용해 혈청형 5 아데노바이러스(Ad5)인 CG0070(Cold Genesys, Inc.)(예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT02143804 참조); 또는

[0710] 망막모세포종(Rb)-경로 결핍 세포에서 선택적으로 복제되도록 그리고 특정 RGD-결합 인테그린을 보다 효율적으로 발현하는 세포를 감염시키도록 유전자 변형된 아데노바이러스인 DNX-2401(이전 명칭 델타-24-RGD)(Clinica Universidad de Navarra, Universidad de Navarra/ DNAtrix, Inc.)(예를 들어, 임상 시험 식별자: NCT01956734 참조).

[0711] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 종양용해 바이러스는 주사, 예를 들어 피하, 동맥 내, 정맥 내, 근육 내, 척수강 내, 또는 복강 내 주사에 의해 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 종양용해 바이러스는 종양 내, 경피, 경점막, 경구, 비강 내, 또는 폐 투여를 통해 투여된다.

[0712] 일 구현예에서, 본원에 기술된 CAR을 발현하는 세포는 Treg 세포 집단을 감소시키는 분자와 조합하여 대상체에게 투여된다. Treg 세포의 수를 감소시키는(예를 들어 고갈시키는) 방법은 당해 분야에 공지되어 있고, 예를 들어 CD25 고갈, 시클로포스파미드 투여, GITR 기능 조정을 포함한다. 이론에 구애되고자 함이 없이, 분리반출술 전 또는 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 투여 전에 대상체에서 Treg 세포의 수를 감소시키는 것은 종양 미세환경에서 원치않는 면역 세포(예를 들어 Treg)의 수를 감소시키고 대상체의 재발 위험을 감소시키는 것으로 여겨진다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 GITR을 표적화하고/거나 GITR 기능을 조정하는 분자, 예컨대 조절 T 세포(Treg)를 고갈시키는 GITR 효능제 및/또는 GITR 항체와 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR을 발현하는 세포는 시클로포스파미드와 조합하여 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, GITR 결합 분자 및/또는 GITR 기능을 조정하는 분자(예를 들어 GITR 작용제 및/또는 Treg 고갈 GITR 항체)는 CAR 발현 세포의 투여 전에 투여된다. 예를 들어 일부 구현예에서, GITR 작용제는 세포의 분리반출술 전에 투여될 수 있다. 구현예에서, 시클로포스파미드는 CAR 발현 세포의 투여(예를 들어, 주입 또는 재주입) 전에 또는 세포의 분리반출술 전에 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 시클로포스파미드 및 항-GITR 항체는 CAR 발현 세포의 투여(예를 들어, 주입 또는 재주입) 전에 또는 세포의 분리반출술 전에 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 암(예를 들어, 고형 암 또는 혈액암, 예컨대 다발성 골수종, ALL 또는 CLL)을 갖는다. 일 구현예에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 다발성 골수종을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 고형 암, 예를 들어 본원에 기술된 고형 암을 갖는다. 예시적인 GITR 작용제는 예를 들어 GITR 융합 단백질 및 항-GITR 항체(예를 들어, 2가 항-GITR 항체), 예를 들어, 미국 특허 제 6,111,090호, 유럽 특허 제 090505B1호, 미국 특허 제 8,586,023호, 국제 공개 제 2010/003118호 및 국제 공개 제2011/090754호에 기술된 GITR 융합 단

백질, 또는 예를 들어 미국 특허 제 7,025,962호, 유럽 특허 제 1947183B1호, 미국 특허 제 7,812,135호, 미국 특허 제 8,388,967호, 미국 특허 제 8,591,886호, 유럽 특허 제 1866339호, 국제 공개 제 2011/028683호, 국제 공개 제2013/039954호, 국제 공개 제 2005/007190호, 국제 공개 제 2007/133822호, 국제 공개 제 2005/055808호, 국제 공개 제 1999/40196호, 국제 공개 제 2001/03720호, 국제 공개 제 1999/20758호, 국제 공개 제 2006/083289호, 국제 공개 제 2005/115451호, 미국 특허 제 7,618,632호 및 국제 공개 제 2011/051726호에 기술된 항-GITR 항체를 포함한다.

[0713] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 mTOR 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 mTOR 억제제, 예를 들어 라파로그(rapalog), 예컨대 에베롤리무스(everolimus)와 조합하여 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, mTOR 억제제는 CAR 발현 세포 이전에 투여된다. 예를 들어 일부 구현예에서, mTOR 억제제는 세포의 분리반출술 이전에 투여될 수 있다.

[0714] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 GITR 작용제, 예를 들어 본원에 기술된 GITR 작용제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, GITR 작용제는 CAR 발현 세포 이전에 투여된다. 예를 들어 일부 구현예에서, GITR 작용제는 세포의 분리반출술 전에 투여될 수 있다.

[0715] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 단백질 티로신 포스파타제 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 단백질 티로신 포스파타제 억제제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 단백질 티로신 포스파타제 억제제는 SHP-1 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 SHP-1 억제제, 예컨대 예를 들어 소듐 스티보글루코네이트이다. 일부 구현예에서, 단백질 티로신 포스파타제 억제제는 SHP-2 억제제이다.

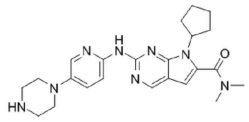
[0716] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 키나제 억제제와 조합하여 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 CDK4 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 CDK4 억제제, 예를 들어 CDK4/6 억제제, 예컨대 예를 들어 6-아세틸-8-시클로펜틸-5-메틸-2-(5-피페라진-1-일-피리딘-2-일아미노)-8H-피리도[2,3-d]피리미딘-7-온, 하이드로클로라이드(팔보시클립 또는 PD0332991로도 지칭됨)이다. 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 BTK 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 BTK 억제제, 예컨대 예를 들어 이브루티닙(ibrutinib)이다. 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 mTOR 억제제, 예컨대 예를 들어 라파마이신, 라파마이신 유사체, OSI-027이다. mTOR 억제제는, 예를 들어 mTORC1 억제제 및/또는 mTORC2 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 mTORC1 억제제 및/또는 mTORC2 억제제일 수 있다. 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 MNK 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 MNK 억제제, 예컨대 예를 들어 4-아미노-5-(4-플루오로아닐리노)-피라졸로[3,4-*d*] 피리미딘이다. MNK 억제제는, 예를 들어 MNK1a, MNK1b, MNK2a 및/또는 MNK2b 억제제일 수 있다. 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 본원에 기술된 이중 PI3K/mTOR 억제제, 예컨대, 예를 들어 PF-04695102이다. 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 DGK 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 DGK 억제제, 예컨대, DGKinh1(D5919) 또는 DGKinh2(D5794)이다.

[0717] 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 알로이신 A; 플라보피리돌 또는 HMR-1275, 2-(2-클로로페닐)-5,7-디하이드록시-8-[(3S,4R)-3-하이드록시-1-메틸-4-피페리디닐]-4-크로메논; 크리조티닙(PF-02341066); 2-(2-클로로페닐)-5,7-디하이드록시-8-[(2*R*,3*S*)-2-(하이드록시메틸)-1-메틸-3-피롤리디닐]-4*H*-1-벤조피란-4-온, 히드로클로라이드(P276-00);
1-메틸-5-[[2-[5-(트리플루오로메틸)-1H-이미다졸-2-일]-4-피리디닐]옥시]-N-[4-(트리플루오로메틸)페닐]-1H-벤즈이미다졸-2-아민(RAF265); 인디술람(E7070); 로스코비틴(CYC202); 팔보시클립(PD0332991); 디나시클립(SCH727965); N-[5-[[(5-tert-부틸옥사졸-2-일)메틸]티오]티아졸-2-일]피페리딘-4-카르복스아미드(BMS 387032); 4-[[9-클로로-7-(2,6-디플루오로페닐)-5H-피리미도[5,4-d][2]벤즈아제핀-2-일]아미노]-벤조산(MLN8054); 5-[3-(4,6-디플루오로-1H-벤즈이미다졸-2-일)-1H-인다졸-5-일]-N-에틸-4-메틸-3-피리딘메탄아민(AG-024322); 4-(2,6-디클로로벤조일아미노)-1H-피라졸-3-카르복실산 N-(피페리딘-4-일)아미드(AT7519); 4-[2-메틸-1-(-1-메틸에틸)-1H-이미다졸-5-일]-N-[4-(메틸술포닐)페닐]-2-피리미딘아민(AZD5438); 및 XL281(BMS908662)로부터 선택된 CDK4 억제제이다.

[0718] 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 CDK4 억제제, 예를 들어 팔보시클립(PD0332991)이고, 팔보시클립은 일정 기간 동안 매일, 예를 들어 28일 사이클의 14~21일 동안 매일 또는 21일 사이클의 7~12일 동안 매일 약 50 mg, 60 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg(예를 들어 75 mg, 100 mg 또는 125 mg)의 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12회 이상의 사이클의 팔보시클립이 투여된다.

[0719] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 사이클린-의존성 키나제(CDK) 4 또는 6 억제제, 예를 들어 본원에 기술된 CDK4 억제제 또는 CDK6 억제제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현

세포는 CDK4/6 억제제(예를 들어 CDK4 및 CDK6 둘 다를 표적화하는 억제제), 예를 들어 본원에 기술된 CDK4/6 억제제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 일 구현예에서, 대상체는 MCL을 갖는다. MCL은 현재 이용 가능한 요법에 대해 불량한 반응성의, 즉 본질적으로 치유 불가능한 공격성 암이다. MCL의 많은 사례에서, 사이클린 D1(CDK4/6의 조절자)이 MCL 세포에서 발현된다(예를 들어 면역글로불린 및 사이클린 D1 유전자를 수반하는 염색체 전위로 인함). 따라서, 이론에 구애됨이 없이, MCL 세포는 높은 특이성으로 CDK4/6을 억제하는 것에 대해 고도로 감수성인 것으로 생각된다(즉, 정상 면역 세포에 대해서는 최소 효과). CDK4/6 억제제 단독은 MCL을 치료하는 데 있어서 약간의 효능을 갖지만, 높은 재발률을 갖는 부분적 관해만이 달성된다. 예시적인 CDK4/6 억제제로는 LEE011(리보시클립으로도 불림)이 있으며, 이의 구조가 하기에 예시된다.

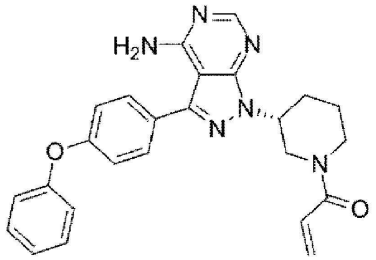


[0720]

[0721] 이론에 구애됨이 없이, CDK4/6 억제제(예를 들어 LEE011 또는 본원에 기술된 다른 CDK4/6 억제제)와 함께 본원에 기술된 CAR 발현 세포를 투여하는 것은, 예를 들어 CDK4/6 억제제 단독과 비교하여, 예를 들어 더 높은 관해율 및/또는 더 낮은 재발률을 갖는 더 높은 반응성을 달성할 수 있는 것으로 여겨진다.

[0722] 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 이브루티닙(PCI-32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; 및 LFM-A13으로부터 선택된 BTK 억제제이다. 바람직한 구현예에서, BTK 억제제는 인터류킨-2-유도성 키나제(ITK)의 키나제 활성을 감소시키지 않거나 억제하지 않고, GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; 및 LFM-A13으로부터 선택된다.

[0723] 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 BTK 억제제, 예를 들어 이브루티닙(PCI-32765)이다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 BTK 억제제(예를 들어 이브루티닙)와 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 이브루티닙(PCI-32765라고도 함)과 조합하여 대상체에게 투여된다. 이브루티닙 1-[(3*R*)-3-[4-아미노-3-(4-페녹시페닐)-1*H*-피라졸로[3,4-d]피리미딘-1-일]피페리딘-1-일]프로프-2-엔-1-온)의 구조가 하기에 예시된다.



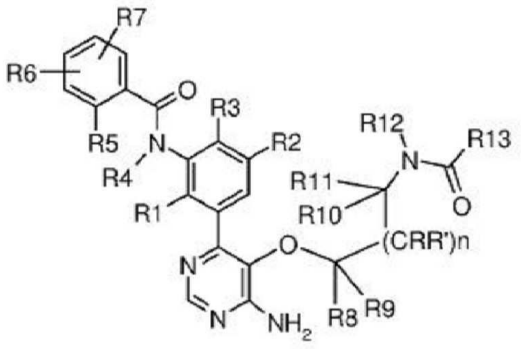
[0724]

[0725] 구현예에서, 대상체는 CLL, 맨틀 세포 림프종(MCL), 또는 소림프구성 림프종(SLL)을 갖는다. 예를 들어 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실(del(17p), 예를 들어 백혈병 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 구현예에서, 대상체는 재발성 CLL 또는 SLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다(예를 들어 이전에 1, 2, 3, 또는 4종의 선행 암 요법을 투여받은 바 있음). 구현예에서, 대상체는 불응성 CLL 또는 SLL을 갖는다. 다른 구현예에서, 대상체는 여포성 림프종, 예를 들어 재발성 또는 불응성 여포성 림프종을 갖는다. 일부 구현예에서, 이브루티닙은 약 300~600 mg/일(예를 들어 약 300~350, 350~400, 400~450, 450~500, 500~550 또는 550~600 mg/일, 예를 들어 약 420 mg/일 또는 약 560 mg/일)의 투여량으로, 예를 들어 경구 투여된다. 구현예에서, 이브루티닙은 약 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 560 mg, 580 mg, 600 mg(예를 들어 250 mg, 420 mg 또는 560 mg)의 용량으로 일정 기간 동안 매일, 예를 들어 21일의 사이클 동안 매일, 또는 28일의 사이클 동안 매일 투여된다. 일부 구현예에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12회 이상의 사이클의 이브루티닙이 투여된다. 일부 구현예에서, 이브루티닙은 리툭시맙과 조합하여 투여된다. 예를 들어 문헌[Burger et al. (2013) Ibrutinib In Combination With Rituximab (iR) Is Well Tolerated and Induces a High Rate Of Durable Remissions In Patients With High-Risk Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): New, Updated Results Of a

Phase II Trial In 40 Patients, Abstract 675 presented at 55th ASH Annual Meeting and Exposition, New Orleans, LA 7-10 Dec]을 참조한다. 이론에 구애됨이 없이, 이브루티닙의 첨가는 T 세포 증식 반응을 증진시키고, T 세포를 T-헬퍼-2(Th2)에서 T-헬퍼-1(Th1) 표현형으로 이동시킬 수 있는 것으로 생각된다. Th1 및 Th2는 헬퍼 T 세포의 표현형으로, Th1 대 Th2는 상이한 면역 반응 경로를 지시한다. Th1 표현형은 예를 들어 세포, 예컨대 세포 내 병원체/바이러스 또는 암성 세포를 사멸시키거나 자가면역 반응을 영속시키는 전염증 반응과 관련된다. Th2 표현형은 호산구 축적 및 항-염증 반응과 관련된다.

[0726] 본원의 방법, 용도 및 조성물의 일부 구현예에서, BTK 억제제는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 국제 공개 제2015/079417호에 기재된 BTK 억제제이다. 예를 들어 일부 구현예에서, BTK 억제제는 화학식 I의 화합물 또는 이의 제약상 허용 가능한 염이다:

[0727] [화학식 I]



[0728]

[0729] (화학식에서,

[0730] R1은 수소, 또는 하이드록시에 의해 선택적으로 치환된 C1-C6 알킬이고;

[0731] R2는 수소 또는 할로겐이고;

[0732] R3은 수소 또는 할로겐이고;

[0733] R4는 수소이고;

[0734] R5는 수소 또는 할로겐이거나;

[0735] 또는 R4 및 R5는 서로 부착되고, 결합, -CH2-, -CH2-CH2-, -CH=CH-, -CH=CH-CH2-; -CH2-CH=CH-; 또는 -CH2-CH2-CH2-를 나타내고;

[0736] R6 및 R7은 서로 독립적으로 H, 하이드록실에 의해 선택적으로 치환된 C1-C6 알킬, 할로겐 또는 하이드록시에 의해 선택적으로 치환된 C3-C6 시클로알킬, 또는 할로겐을 나타내고;

[0737] R8, R9, R, R', R10 및 R11은 서로 독립적으로 H, 또는 C1-C6 알콕시에 의해 선택적으로 치환된 C1-C6 알킬을 나타내거나; 또는 R8, R9, R, R', R10 및 R11 중 임의의 2개는 이들이 결합되어 있는 탄소 원자와 함께 3 내지 6원 포화 카르보시클릭 고리를 형성할 수 있고;

[0738] R12는 수소, 또는 할로겐 또는 C1-C6 알콕시에 의해 선택적으로 치환된 C1-C6 알킬이거나;

[0739] 또는 R12 및 R8, R9, R, R', R10 또는 R11 중 어느 하나는 이들이 결합되어 있는 원자와 함께, 할로겐, 시아노, 하이드록실, C1-C6 알킬 또는 C1-C6 알콕시에 의해 선택적으로 치환될 수 있는 4, 5, 6 또는 7원 아자시클릭 고리를 형성할 수 있고;

[0740] n은 0 또는 1이고;

[0741] R13은 C1-C6 알킬, C1-C6 알콕시 또는 N,N-디-C1-C6 알킬 아미노에 의해 선택적으로 치환된 C2-C6 알케닐; C1-C6 알킬 또는 C1-C6 알콕시에 의해 선택적으로 치환된 C2-C6 알키닐; 또는 C1-C6 알킬에 의해 선택적으로 치환된 C2-C6 알킬레닐 옥시드이다.

[0742] 일부 구현예에서, 화학식 I의 BTK 억제제는 다음으로부터 선택된다:

N-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-3-일)옥시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-에노일)아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-((1-프로피올로일아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-이노일)아제티딘-3-일)옥시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-((1-아크릴로일피페리딘-4-일)옥시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸아크릴아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-엔아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸프로피올아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (E)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(4-메톡시-N-메틸부트-2-엔아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-인아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(2-((4-아미노-6-(3-(4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미도)-5-플루오로-2-메틸페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸옥시란-2-카르복스아미드; N-(2-((4-아미노-6-(3-(6-시클로프로필-8-플루오로-1-옥소이소퀴놀린-2(1H)-일)페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸아크릴아미드; N-(3-(5-(2-아크릴아미도에톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-에틸아크릴아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-(2-플루오로에틸)아크릴아미도)에톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-((1-아크릴아미도시클로프로필)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-(2-아크릴아미도프로폭시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(부트-2-인아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸아크릴아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-(2-(N-메틸부트-2-인아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(3-(N-메틸아크릴아미도)프로폭시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-((1-아크릴로일피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-((1-(부트-2-이노일)피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-2-(3-(5-((1-아크릴로일피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-(하이드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; N-(2-((4-아미노-6-(3-(6-시클로프로필-1-옥소-3,4-디히드로이소퀴놀린-2(1H)-일)-5-플루오로-2-(하이드록시메틸)페닐)피리미딘-5-일)옥시)에틸)-N-메틸아크릴아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4R)-1-(부트-2-이노일)-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; 2-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-(하이드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; N-(3-(5-(((2S,4S)-1-아크릴로일-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드;

N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4S)-1-(부트-2-이노일)-4-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-플루오로피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(6-아미노-5-(((2S,4R)-1-(부트-2-이노일)-4-플루오로피롤리딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-N-(3-(6-아미노-5-((1-프로피올로일아제티딘-2-일)메톡시)피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (S)-2-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-(하이드록시메틸)페닐)-6-시클로프로필-3,4-디히드로이소퀴놀린-1(2H)-온; (R)-N-(3-(5-((1-아크릴로일아제티딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; (R)-N-(3-(5-((1-아크릴로일피페리딘-3-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2R,3S)-1-아크릴로일-3-메톡시피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; N-(3-(5-(((2S,4R)-1-아크릴로일-4-시아노피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피

리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드; 또는 N-(3-(5-(((2S,4S)-1-아크릴로일-4-시아노피롤리딘-2-일)메톡시)-6-아미노피리미딘-4-일)-5-플루오로-2-메틸페닐)-4-시클로프로필-2-플루오로벤즈아미드.

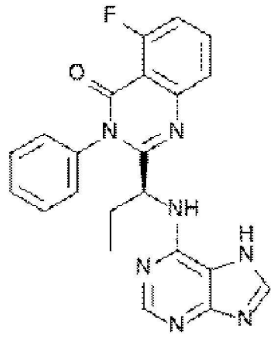
[0743] 달리 제공되지 않는 한, 화학식 I의 BTK 억제제를 기술하는 데 있어서 위에서 사용된 화학 용어는 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 국제 출원 제2015/079417호에 제시된 바와 같은 그의 의미에 따라 사용된다.

[0744] 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 다음으로부터 선택된 mTOR 억제제이다: 템시롤리무스; 리다포롤리무스(1R,2R,4S)-4-[(2R)-2 [(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-디하이드록시-19,30-디메톡시-15,17,21,23,29,35-헥사메틸-2,3,10,14,20-펜타옥소-11,36-디옥사-4-아자트리시클로[30.3.1.$0^{4,9}$] 헥사트리아콘타-16,24,26,28-테트라엔-12-일]프로필]-2-메톡시시클로헥실 디메틸포스피네이트, AP23573 및 MK8669로도 공지됨; 에베롤리무스(RAD001); 라파마이신(AY22989); 세마피모드; (5-{2,4-비스[(3*S*)-3-메틸모르폴린-4-일]피리도[2,3-*d*]피리미딘-7-일}-2-메톡시페닐)메탄올(AZD8055); 2-미노-8-[트랜스-4-(2-하이드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(PF04691502); 및 N^2-[1,4-디옥소-4-[[4-(4-옥소-8-페닐-4H-1-벤조피란-2-일)모르폴리늄-4-일]메톡시]부틸]-L-아르기닐글리실-L-α-아스파르틸L-세린-(서열번호 285), 내부 염(SF1126); 및 XL765.

[0745] 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 라파마이신이고, 라파마이신은 약 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg(예를 들어 6 mg)의 용량으로 일정 기간 동안 매일, 예를 들어 21일의 사이클 동안 매일, 또는 28일의 사이클 동안 매일 투여된다. 일부 구현예에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12회 이상의 사이클의 라파마이신이 투여된다. 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 mTOR 억제제, 예를 들어 에베롤리무스이고, 에베롤리무스는 약 2 mg, 2.5 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg(예를 들어 10 mg)의 용량으로 일정 기간 동안 매일, 예를 들어 28일의 사이클 동안 매일 투여된다. 일부 구현예에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12회 이상의 사이클의 에베롤리무스가 투여된다.

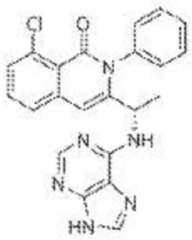
[0746] 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 CGP052088; 4-아미노-3-(p-플루오로페닐아미노)-피라졸로[3,4-d] 피리미딘(CGP57380); 세르코스포라미드; ETC-1780445-2; 및 4-아미노-5-(4-플루오로아닐리노)-피라졸로[3,4-d] 피리미딘으로부터 선택된 MNK 억제제이다.

[0747] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는, 포스포이노시티드 3-키나제(PI3K) 억제제(예를 들어, 본원에 기술된 PI3K 억제제, 예를 들어 이델라리시브 또는 두벨리시브) 및/또는 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 이델라리십 및 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 두벨리십 및 리툭시맙과 조합하여 대상체에게 투여된다. 이델라리시브(GS-1101 또는 CAL-101라고도 함; Gilead)는 PI3K의 델타 이소형을 차단하는 소분자이다. 이델라리시브 (5-플루오로-3-페닐-2-[(1*S*)-1-(7*H*-퓨린-6-일아미노)프로필]-4(3*H*)-퀴나졸리논)의 구조가 하기에 예시된다.



[0748]

[0749] 두벨리십(IPI-145로도 불림; Infinity Pharmaceuticals 및 Abbvie)은 PI3K-δ,γ를 차단하는 소분자이다. 두벨리십(8-클로로-2-페닐-3-[(1S)-1-(9H-퓨린-6-일아미노)에틸]-1(2H)-이소퀴놀리논)의 구조가 하기에 예시된다.



[0750]

[0751] 구현예에서, 대상체는 CLL을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 재발성 CLL을 갖고, 예를 들어 대상체는 이전에 암 요법을 투여받은 바 있다(예를 들어 이전에 항-CD20 항체를 투여받은 바 있거나, 또는 이전에 이브루티닙을 투여받은 바 있음). 예를 들어 대상체는 짧은 아암의 염색체 17에서 결실(del(17p), 예를 들어 백혈병 세포에서)을 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 del(17p)을 갖지 않는다. 구현예에서, 대상체는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(IgV_H) 유전자에서의 돌연변이를 포함하는 백혈병 세포를 포함한다. 다른 구현예에서, 대상체는 면역글로불린 중쇄 가변 영역(IgV_H) 유전자에서의 돌연변이를 포함하는 백혈병 세포를 포함하지 않는다. 구현예에서, 대상체는 긴 아암의 염색체 11에서 결실(del(11q))을 갖는다. 다른 구현예에서, 대상체는 del(11q)을 갖지 않는다. 구현예에서, 이델라리십은 약 100~400 mg(예를 들어 100~125, 125~150, 150~175, 175~200, 200~225, 225~250, 250~275, 275~300, 325~350, 350~375, 또는 375~400 mg)의 투여량으로, 예를 들어 BID 투여된다. 구현예에서, 두벨리십은 약 15~100 mg(예를 들어 약 15~25, 25~50, 50~75, 또는 75~100 mg)의 투여량으로, 예를 들어 1일 2회 투여된다. 구현예에서, 리툭시맙은 약 350~5500 mg/m^2(예를 들어, 350~375, 375~400, 400~425, 425~450, 450~475, 또는 475~500 mg/m^2)의 용량으로, 예를 들어 정맥 내 투여된다.

[0752] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 역형성 림프종 키나제(ALK) 억제제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 예시적 ALK 키나제는 크리조티닙(Pfizer), 세리티닙(Novartis), 알렉티닙(Chugai), 브리가티닙(AP26113*AP26113*이라고도 함; Ariad), 엔트렉티닙(Ignyta), PF-06463922(Pfizer), TSR-011(Tesaro)(예를 들어, 임상 시험 식별 번호 NCT02048488 참조), CEP-37440(Teva), 및 X-396(Xcovery)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 고형 암, 예를 들어 본원에 기술된 고형 암, 예를 들어 폐암을 갖는다.

[0753] 크리조티닙의 화학명은 3-[(1*R*)-1-(2,6-디클로로-3-플루오로페닐)에톡시]-5-(1-피페리딘-4-일피라졸-4-일)피리딘-2-아민이다. 세리티닙의 화학명은 5-클로로-N^2-[2-이소프로폭시-5-메틸-4-(4-피페리디닐)페닐]-N^4-[2-(이소프로필설포닐)페닐]-2,4-피리미딘디아민이다. 알렉티닙의 화학명은 9-에틸-6,6-디메틸-8-(4-모르폴리노피페리딘-1-일)-11-옥소-6,11-디하이드로-5H-벤조[b]카르바졸-3-카르보니트릴이다. 브리가티닙의 화학명은 5-클로로-N^2-{4-[4-(디메틸아미노)-1-피페리디닐]-2-메톡시페닐}-N^4-[2-(디메틸포스포릴)페닐]-2,4-피리미딘디아민이다. 엔트렉티닙의 화학명은 N-(5-(3,5-디플루오로벤질)-1H-인다졸-3-일)-4-(4-메틸피페라진-1-일)-2-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)벤즈아미드이다. PF-06463922의 화학명은 (10R)-7-아미노-12-플루오로-2,10,16-트리메틸-15-옥소-10,15,16,17-테트라히드로-2H-8,4-(메테노)피라졸로[4,3-h][2,5,11]-벤족사디아자시클로테트라데신-3-카르보니트릴이다. CEP-37440의 화학 구조는 (S)-2-((5-클로로-2-((6-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)-1-메톡시-6,7,8,9-테트라히드로-5H-벤조[7]아눌렌-2-일)아미노)피리미딘-4-일)아미노)-N-메틸벤즈아미드이다. X-396의 화학명은 (R)-6-아미노-5-(1-(2,6-디클로로-3-플루오로페닐)에톡시)-N-(4-(4-메틸피페라진-1-카르보닐)페닐)피리다진-3-카르복사미드이다.

[0754] 일부 구현예에서, 키나제 억제제는 2-아미노-8-[트랜스-4-(2-하이드록시에톡시)시클로헥실]-6-(6-메톡시-3-피리디닐)-4-메틸-피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온(PF-04691502); N-[4-[[4-(디메틸아미노)-1-피페리디닐]카보닐]페닐]-N'-[4-(4,6-디-4-모르폴리닐-1,3,5-트리아진-2-일)페닐]우레아(PF-05212384, PKI-587); 2-메틸-2-{4-[3-메틸-2-옥소-8-(퀴놀린-3-일)-2,3-디하이드로-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-일]페닐}프로판니트릴(BEZ-235); 아피톨리십(GDC-0980, RG7422); 2,4-디플루오로-N-{2-(메틸옥시)-5-[4-(4-피리다지닐)-6-퀴놀리닐]-3-피리디닐}벤젠술폰아미드(GSK2126458);
8-(6-메톡시피리딘-3-일)-3-메틸-1-(4-(피페라진-1-일)-3-(트리플루오로메틸)페닐)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-2(3H)-온 말레산(NVP-BGT226); 3-[4-(4-모르폴리닐피리도[3',2':4,5]푸로[3,2-d]피리미딘-2-일]페놀(PI-103); 5-(9-이소프로필-8-메틸-2-모르폴리노-9H-푸린-6-일)피리미딘-2-아민(VS-5584, SB2343); 및 N-[2-[(3,5-디메톡시페닐)아미노]퀴녹살린-3-일]-4-[(4-메틸-3-메톡시페닐)카보닐]아미노페닐술폰아미드(XL765)로부터 선택되는

이중 포스파티딜이노시톨 3-키나제(PI3K) 및 mTOR 억제제이다.

[0755] 칼슘 의존성 포스파타제 칼시뉴린(시클로스포린 및 FK506)을 억제하거나 또는 성장 인자 유도 신호전달에 중요한 p70S6 키나제를 억제하는 약물(라파마이신) (문헌[Liu et al., Cell 66:807-815, 1991]; 문헌[Henderson et al., Immun. 73:316-321, 1991]; 문헌[Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993])이 또한 사용될 수 있다. 추가의 양태에서, 본 발명의 세포 조성물은 골수 이식, 플루다라빈과 같은 화학요법제를 사용하는 T 세포 제거 요법, 외부-빔 방사선 요법(XRT), 시클로포스파미드, 및/또는 항체, 예컨대 OKT3 또는 CAMPATH와 공동으로(예를 들어 그 전에, 동시에 또는 그 후에) 환자에게 투여될 수 있다. 일 양태에서, 본 발명의 세포 조성물은 B-세포 제거 요법, 예컨대 CD20과 반응하는 작용제, 예를 들어 리툭산 후에 투여된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 대상체는 고용량 화학요법에 이은 말초 혈액 줄기 세포 이식을 이용한 표준 치료를 받을 수 있다. 특정 구현예에서, 이식 후에, 대상체는 본 발명의 확장된 면역 세포의 주입을 받는다. 추가적 양태에서, 확장된 세포는 수술 전 또는 수술 후에 투여된다.

[0756] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 비포스포네이트, 예를 들어, 팔미드로네이트(Aredia®); 졸레드론산 또는 졸레드로네이트(Zometa®, Zomera®, Aclasta®, 또는 Reclast®); 알렌드로네이트(Fosamax®); 리센드로네이트(Actonel®); 이반드로네이트(Boniva®); 클론드로네이트(Bonefos®); 에티드로네이트(Didronel®); 틸루드로네이트(Skelid®); 팔미드로네이트(Aredia®); 네리드로네이트(Nerixia®); 스트론티운 라넬레이트(Protelos®, 또는 Protos®); 및 테리파라타이드(Forteo®)와 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0757] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 코르티코스테로이드, 예컨대 덱사메타손(예를 들어 데카드론(Decadron)®), 베클로메타손(예를 들어 베클로벤트(Beclovent)®), 히드로코르티손(코르티손, 히드로코르티손 소듐 숙시네이트, 히드로코르티손 소듐 포스페이트로도 공지되어 있고, 상표명 알라-코르트(Ala-Cort)®, 히드로코르티손 포스페이트, 솔루-코르테프(Solu-Cortef)®, 히드로코르트 아세테이트(Hydrocort Acetate)® 및 라나코르트(Lanacort)® 하에 판매됨), 프레드니솔론(상표명 델타-코르텔(델타-Cortel)®, 오라프레드(Orapred)®, 페디아프레드(Pediapred)® 및 프렐론(Prelone)® 하에 판매됨), 프레드니손 (상표명 델타손(델타sone)®, 리퀴드 레드(Liquid Red)®, 메티코르텐(Meticorten)® 및 오라손(Orasone)® 하에 판매됨), 메틸프레드니솔론 (6-메틸프레드니솔론, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 메틸프레드니솔론 소듐 숙시네이트로도 공지되어 있고, 상표명 듀랄론(Duralone)®, 메드랄론(Medralone)®, 메드롤(Medrol)®, M-프레드니솔(M-Prednisol)® 및 솔루-메드롤(Solu-Medrol)® 하에 판매됨); 항히스타민제, 예컨대 디펜히드라민(예를 들어 베나드릴(Benadryl)®), 하이드록시진, 및 시프로헵타딘; 및 기관지확장제, 예컨대 베타-아드레날린성 수용체 효능제, 알부테롤(예를 들어 프로벤틸(Proventil)®) 및 테르부탈린(브레틴(Brethine)®)과 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0758] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 면역조절제, 예를 들어, 아푸투주맙(Roche®로부터 입수 가능함); 페그필그라스팀(Neulasta®); 레날리도미드(CC-5013, Revlimid®); 탈리도미드(Thalomid®), 악티미드(CC4047); 및 IRX-2(인터류킨 1, 인터류킨 2, 및 인터페론 γ을 포함한 인간 사이토카인의 혼합물, CAS 951209-71-5(IRX Therapeutics로부터 입수 가능함)와 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0759] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 프로테아솜 억제제, 예를 들어, 보르테조밉(Velcade®); 익사조밉 시트레이트(MLN9708, CAS 1201902-80-8); 다노프레비르(RG7227, CAS 850876-88-9); 익사조밉(MLN2238, CAS 1072833-77-2); 및 (S)-N-[(페닐메톡시)카보닐]-L-류실-N-(1-포르밀-3-메틸부틸)-L-류신아미드(MG-132, CAS 133407-82-6)와 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0760] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 혈관 내피 성장 인자(VEGF) 수용체, 예를 들어, 베바시주맙(Avastin®), 악시티닙(Inlyta®); 브리바닙 알라니네이트(BMS-582664, (S)-((R)-1-(4-(4-플루오로-2-메틸-1H-인돌-5-일옥시)-5-메틸피롤로[2,1-f][1,2,4]트리아진-6-일옥시)프로판-2-일)2-아미노프로파노에이트); 소라페닙(Nexavar®); 파조파닙(Votrient®); 수니티닙 말레이트(Sutent®); 세디라닙(AZD2171, CAS 288383-20-1); 바가테프(BIBF1120, CAS 928326-83-4); 포레티닙(GSK1363089); 텔라티닙(BAY57-9352, CAS 332012-40-5); 아파티닙(YN968D1, CAS 811803-05-1); 이마티닙(Gleevec®); 포나티닙(AP24534, CAS 943319-70-8); 티보자닙(AV951, CAS 475108-18-0); 레고라페닙(BAY73-4506, CAS 755037-03-7); 바탈라닙 디하이드로클로라이드(PTK787, CAS 212141-51-0); 브리바닙(BMS-540215, CAS 649735-46-6); 반데타닙(Caprelsa® 또는 AZD6474); 모테사닙 디포스페이트(AMG706, CAS 857876-30-3, N-(2,3-디하이드로-3,3-디메틸-1H-인돌-6-일)-2-[(4-피리디닐메틸)아미노]-3-피리딘카복사미드, 국제 공개 제2002/066470호에 기술됨); 도비티닙 중젖산(TKI258, CAS 852433-84-2); 린파닙(ABT869, CAS 796967-16-3); 카보잔티닙(XL184, CAS 849217-68-1); 레스타우르티닙(CAS

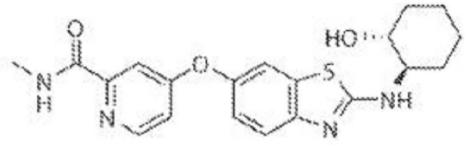
111358-88-4); N-[5-[[[5-(1,1-디메틸에틸)-2-옥사졸릴]메틸]티오]-2-티아졸릴]-4-피페리딘카복사미드(BMS38703, CAS 345627-80-7); (3R,4R)-4-아미노-1-((4-((3-메톡시페닐)아미노)피롤로[2,1-f][1,2,4]트리아진-5-일)메틸)피페리딘-3-올 (BMS690514); N-(3,4-디클로로-2-플루오로페닐)-6-메톡시-7-[[(3aα,5β,6aα)-옥타하이드로-2-메틸사이클로펜타[c]파이롤-5-일]메톡시]-4-퀴나졸린아민(XL647, CAS 781613-23-8); 4-메틸-3-[[1-메틸-6-(3-피리디닐)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-4-일]아미노]-N-[3-(트리플루오로메틸)페닐]-벤즈아미드(BHG712, CAS 940310-85-0); 및 아플리베르셉트(Eylea®)와 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0761] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 CD20 항체 또는 이의 접합체, 예를 들어, 리툭시맙(Riuxan® 및 MabThera®); 및 토시투모맙(Bexxar®); 및 오파투무맙(Arzerra®), 이브리투모맙 티욱세탄(Zevalin®); 및 토시투모맙과 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0762] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 항경련제, 예를 들어, 항경련제(항간질 또는 항발작 약물): 알데히드, 예를 들어, 파르알데히드; 방향족 알릴 알코올, 예를 들어, 스트리펜톨(Diacomit®); 바비튜레이트, 예를 들어, 페노바르비탈(Luminal®), 메틸페노바르비탈(Mebaral®), 바벡사클론(Maliasin®), 벤조디아제핀, 예를 들어, 클로바잠(Onfi®), 클로나제팜(Klonopin®), 클로르아제페이트(Tranxene® 및 Novo-Clopate®), 디아제팜(Valium®, Lembrol®, Diastat®), 미다졸람(Versed®), 로라제팜(Ativan® 및 Orfidal®), 니트라제팜(Alodorm®, Arem®, Insoma®), 테마제팜(restoril®, Normison®), 니메트제팜(Erimin®), 브로마이드, 예를 들어, 브롬화칼륨; 카바메이트, 예를 들어, 펠바메이트(Felbatol®); 카복사미드, 예를 들어, 카밤아제핀(Tegretol®, Equetro®), 옥스카르브아제핀(Trileptal®, Oxcarb®), 에슬리카바제핀 아세테이트(Aptiom®); 지방산, 예를 들어, 발프로에이트(발프로산, 나트륨 발프로에이트, 디발프로엑스 나트륨), 비가바트린(Sabril®), 프로가바이드(Gabren®), 티아가빈(Gabitril®); 푸룩토스 유도체, 예를 들어, 토피라메이트(Topamax®); GABA 유사체, 예를 들어, 가바펜틴(Neurontin®), 프레가발린(Lyrica®); 히단토인, 예를 들어, 에토토인(Peganone®), 페나이토인(Dilantin®), 메페나이토인(Mesantoin®), 포스페나이토인(Cerebyx®, Prodilantin®); 옥사졸리딘디온, 예를 들어, 파라메타디온(Paradione®), 트리메타디온(Tridione®); 프로피오네이트, 예를 들어, 베클라미드(Choracon®, Hibicon®, Posedrine®); 피리미딘디온, 예를 들어, 프리미돈(Mysoline®); 피롤리딘, 예를 들어, 브리바라세탐, 레베티라세탐, 셀레트라세탐(Keppra®); 석신이미드, 예를 들어, 에토석시마이드(Zarontin®), 펜숙시미드(Milontin®), 메숙시미드(Celontin®, Petinutin®); 설폰아미드, 예를 들어, 아세타졸라미드(Diamox®), 설티암(Ospolot®), 메타졸아미드(Neptazane®), 조니사마이드(Zonegran®); 트리아진, 예를 들어, 라모트리진(Lamictal®); 우레아, 예를 들어, 페네투라이드, 페나세미드(Phenurone®); 발프로일아미드(발프로에이트의 아미드 유도체), 예를 들어, 발프로미드(Depamide®), 발록타미드; AMPA 수용체 길항제, 예를 들어, 페람파넬(Fycompa®)과 조합하여 대상체에게 투여된다.

[0763] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(IDO) 억제제와 조합하여 대상체에게 투여된다. IDO는 아미노산, L-트립토판의 키누레닌으로의 분해를 촉매하는 효소이다. 많은 암, 예를 들어 전립선암, 결장직장암, 췌장암, 자궁경부암, 위암, 난소암, 두부암, 및 폐암은 IDO를 과발현한다. pDC, 대식세포, 및 수지상 세포(DC)는 IDO를 발현할 수 있다. 이론에 구애됨이 없이, L-트립토판의 감소(예를 들어 IDO에 의해 촉매됨)는 T-세포 무반응 및 아폽토시스를 유도함으로써 면역억제 환경을 발생시키는 것으로 생각된다. 따라서, 이론에 구애됨이 없이, IDO 억제제는 예를 들어 CAR 발현 면역 세포의 억제 또는 사멸을 감소시킴으로써 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 효능을 증진시킬 수 있는 것으로 생각된다. 구현예에서, 대상체는 고형 종양, 예를 들어 본원에 기술된 고형 종양, 예를 들어 전립선암, 결장직장암, 췌장암, 자궁경부암, 위암, 난소암, 두부암 또는 폐암을 갖는다. 예시적인 IDO의 억제제는 1-메틸-트립토판, 인독시모드(NewLink Genetics)(예를 들어, 임상 시험 식별 번호 NCT01191216; NCT01792050 참조), 및 INCB024360(Incyte Corp.)(예를 들어, 임상 시험 식별 번호 NCT01604889; NCT01685255 참조)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0764] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 조절제와 조합하여 대상체에게 투여된다. MDSC는 많은 고형 종양의 주변 및 종양 부위에 축적된다. 이들 세포는 T 세포 반응을 억제함으로써 CAR 발현 세포 요법의 효능을 방해한다. 이론에 구애됨이 없이, MDSC 조절제의 투여는 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 효능을 증진시키는 것으로 생각된다. 일 구현예에서, 대상체는 고형 종양, 예를 들어 본원에 기술된 고형 종양, 예를 들어 교모세포종을 갖는다. MDSC의 예시적인 조절제는 MCS110 및 BLZ945를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. MCS110은 대식세포 콜로니-자극 인자(M-CSF)에 대한 단클론 항체(mAb)이다. 예를 들어 임상 시험 식별자 번호 NCT00757757을 참조한다. BLZ945는 콜로니 자극 인자 1 수용체(CSF1R)의 소분자 억제제이다. 예를 들어 문헌[Pyonteck et al. Nat. Med. 19(2013):1264-72]을 참조한다. BLZ945의 구조는 하기에 예시된다.



[0765]

[0766] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 CD19 CART 세포(예를 들어, 예를 들어, 본원에 참고로 포함된 국제 공개 제2012/079000호에 기술된 바와 같은 CTL019)와 조합하여 대상체에게 투여된다. 구현예에서, 대상체는 급성 골수 백혈병(AML), 예를 들어, CD19 양성 AML 또는 CD19 음성 AML을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 CD19+ 림프종, 예를 들어, CD19+ 비-호지킨 림프종(NHL), CD19+ FL, 또는 CD19+ DLBCL을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 재발성 또는 불응성 CD19+ 림프종을 갖는다. 구현예에서, 림프고갈 화학요법제는 CD19 CART 세포의 투여(예를 들어, 주입) 전에, 동시에, 또는 후에 대상체에게 투여된다. 하나의 예에서, 림프고갈 화학요법제는 CD19 CART 세포의 투여 전에 대상체에게 투여된다. 예를 들어, 림프고갈 화학요법제는 CD19 CART 세포를 주입하기 1~4일(예를 들어, 1, 2, 3, 또는 4일) 전에 끝난다. 구현예에서, 다회 용량의 CD19 CART 세포가 투여되며, 이는 예를 들어 본원에 기술된 바와 같다. 예를 들어, 단회 용량은 약 5 x 10^8개의 CD19 CART 세포를 포함한다. 구현예에서, 림프고갈 화학요법제는 본원에 기술된 CAR 발현 세포, 예를 들어, 비-CD19 CAR 발현 세포의 투여(예를 들어, 주입) 전에, 동시에, 또는 후에 대상체에게 투여된다. 구현예에서, CD19 CART는 비-CD19 CAR 발현 세포, 예를 들어, 본원에 기술된 비-CD19 CAR 발현 세포의 투여(예를 들어, 주입) 전에, 동시에, 또는 후에 대상체에게 투여된다.

[0767] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 BCMA의 발현과 관련된 질환, 예를 들어, 본원에 기술된 암의 치료를 위해, 예를 들어 본원에 참고로 포함된 국제 공개 제WO2012/079000호에 기술된 바와 같이, CD19 CAR 발현 세포, 예를 들어, CTL019와 조합하여 대상체에게 투여된다. 이론에 구애됨 없이, CD19 CAR 발현 세포를 CAR 발현 세포와 조합하여 투여하는 것은 조기 계통 암 세포, 예를 들어, 암 줄기 세포를 표적화하고, 면역 반응을 조절하고, 조절 B 세포를 고갈시키고/고갈시키거나 종양 미세환경을 개선하여 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 효능을 개선하는 것으로 여겨진다. 예를 들어, CD19 CAR 발현 세포는 조기 계통 마커, 예를 들어, 암 줄기 세포 및 CD19 발현 세포를 발현하는 암 세포를 표적화하고, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 후기 계통 마커, 예를 들어, BCMA를 발현하는 암 세포를 표적화한다. 이러한 전처치 접근법은 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 효능을 개선할 수 있다. 이러한 구현예에서, CD19 CAR 발현 세포는 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 투여(예를 들어, 주입) 전에, 동시에, 또는 후에 투여된다.

[0768] 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 또한 CD19를 표적화하는 CAR, 예를 들어, CD19 CAR을 발현한다. 일 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 및 CD19 CAR을 발현하는 세포는 본원에 기술된 암, 예를 들어, AML의 치료를 위해 대상체에게 투여된다. 일 구현예에서, CAR 분자 중 하나 또는 둘 모두의 입체배치는 일차 세포내 신호전달 도메인 및 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 또 다른 구현예에서, CAR 분자 중 하나 또는 둘 모두의 입체배치는 일차 세포내 신호전달 도메인 및 2개 이상, 예를 들어, 2, 3, 4, 또는 5개 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 이러한 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 분자 및 CD19 CAR은 동일 또는 상이한 일차 세포내 신호전달 도메인, 동일 또는 상이한 공동자극 신호전달 도메인, 또는 동일한 수 또는 상이한 수의 공동자극 신호전달 도메인을 가질 수 있다. 대안적으로, 본원에 기술된 CAR 및 CD19 CAR은 스플릿 CAR로서 구성되며, CAR 분자 중 하나는 항원 결합 도메인 및 공동자극 도메인(예를 들어, 4-1BB)을 포함하고, 나머지 CAR 분자는 항원 결합 도메인 및 일차 세포내 신호전달 도메인(예를 들어, CD3 제타)을 포함한다.

[0769] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 인터류킨-15(IL-15) 폴리펩티드, 인터류킨-15 수용체 알파(IL-15Ra) 폴리펩티드, 또는 IL-15 폴리펩티드와 IL-15Ra 폴리펩티드의 조합, 예를 들어, hetIL-15(Admune Therapeutics, LLC)와 조합하여 대상체에게 투여된다. hetIL-15는 IL-15와 IL-15Ra의 이종이량체 비공유 복합체이다. hetIL-15는, 예를 들어 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 제8,124,084호, 미국 특허 공개 제2012/0177598호, 미국 특허 공개 제2009/0082299호, 미국 특허 공개 제2012/0141413호, 및 미국 특허 공개 제2011/0081311호에 기술되어 있다. 구현예에서, het-IL-15는 피하로 투여된다. 구현예에서, 대상체는 암, 예를 들어 고형 암, 예를 들어 흑색종 또는 결장암을 갖는다. 구현예에서, 대상체는 전이성 암을 갖는다.

[0770] 일부 구현예에서, 대상체에게 CAR 발현 세포의 투여와 관련된 부작용을 감소 또는 개선시키는 작용제를 투여할

수 있다. CAR 발현 세포의 투여와 관련된 부작용은 CRS, 및 대식세포 활성화 증후군(MAS)으로도 불리는 혈구포식성 림프조직구증식증(HLH)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. CRS의 증상은 고열, 오심, 일시적 저혈압, 저산소증 등을 포함한다. CRS는 임상적 구성성 징후 및 증상, 예컨대 열, 피로, 식욕부진, 근육통, 관절통, 오심, 구토 및 두통을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 피부 징후 및 증상, 예컨대 발진을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 위장 징후 및 증상, 예컨대 오심, 구토 및 설사를 포함할 수 있다. CRS는 임상적 호흡 징후 및 증상, 예컨대 빈호흡 및 저산소증을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 심혈관 징후 및 증상, 예컨대 빈맥, 넓어진 맥압, 저혈압, 심박출량 증가(조기) 및 잠재적으로 감소된 심박출량(후기)을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 응고 징후 및 증상, 예컨대, 상승된 d-이량체, 출혈이 존재하거나, 존재하지 않는 저섬유소원혈증을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 신장 징후 및 증상, 예컨대 질소혈증을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 간 징후 및 증상, 예컨대 트랜스아미니티스(transaminitis) 및 고빌리루빈혈증(hyperbilirubinemia)을 포함할 수 있다. CRS는 임상적 신경 징후 및 증상, 예컨대 두통, 정신 상태 변화, 혼동, 섬망, 단어 찾기 곤란 또는 프랭크 실어증(frank aphasia), 환각, 진전, 겨냥이상, 보행 변경 및 발작을 포함할 수 있다.

[0771] 따라서, 본원에 기술된 방법은 본원에 기술된 CAR 발현 세포를 대상체에게 투여하는 단계 및 CAR 발현 세포를 이용한 치료로부터 초래되는 상승된 수준의 가용성 인자를 관리하기 위하여 하나 이상의 작용제를 추가로 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체에서 상승되는 가용성 인자는 IFN-γ, TNFα, IL-2 및 IL-6 중 하나 이상이다. 일 구현예에서, 대상체에서 상승되는 인자는 IL-1, GM-CSF, IL-10, IL-8, IL-5 및 프랙탈킨(fraktalkine) 중 하나 이상이다. 따라서, 이러한 부작용을 치료하기 위해 투여되는 작용제는 이들 가용성 인자 중 하나 이상을 중화시키는 작용제일 수 있다. 일부 구현예에서, 이들 가용성 형태 중 하나 이상을 중화시키는 작용제는 항체 또는 항체 단편이다. 이러한 작용제의 예는 스테로이드(예를 들어 코르티코스테로이드), TNFα의 억제제, 및 IL-6의 억제제를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. TNFα 억제제의 예로는 항-TNFα 항체 분자, 예컨대 인플릭시맙, 아달리무맙, 세르톨리주맙 페골 및 골리무맙이 있다. TNFα 억제제의 또 다른 예로는 융합 단백질, 예컨대 에타너셉트(etanercept)가 있다. TNFα의 소분자 억제제는 잔틴 유도체(예를 들어 펜톡시필린) 및 부프로피온을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. IL-6 억제제의 예는 항-IL-6 항체 분자, 예컨대 토실리주맙(toc), 사릴루맙(sarilumab), 엘실리모맙(elsilimomab), CNTO 328, ALD518/BMS-945429, CNTO 136, CPSI-2364, CDP6038, VX30, ARGX-109, FE301, 및 FM101이다. 일부 구현예에서, 항-IL-6 항체 분자는 토실리주맙이다. IL-1R 기반 억제제의 예로는 아나킨라(anakinra)가 있다.

[0772] 일부 구현예에서, 대상체에게 다른 것들 중 특히, 코르티코스테로이드, 예컨대, 예를 들어 메틸프레드니솔론, 하이드로코르티손이 투여된다.

[0773] 일부 구현예에서, 대상체에게 혈관수축제, 예컨대, 예를 들어 노르에피네프린, 도파민, 페닐에프린, 에피네프린, 바소프레신 또는 이들의 조합이 투여된다.

[0774] 일 구현예에서, 대상체에게 해열제가 투여될 수 있다. 일 구현예에서, 대상체에게 진통제가 투여될 수 있다.

[0775] 일부 구현예에서, 대상체에게 BCMA CAR 발현 세포의 뇌로의 트래픽킹을 방지하는 작용제, 예를 들어 나탈리주맙(TYSABRI®)이 투여될 수 있다. BCMA 발현, 예를 들어, 이의 스플라이스 변이체는 뇌의 일부분, 예를 들어, 소뇌 또는 연수에서 검출되었다. 특정 이론에 구애되고자 함이 없이, 뇌로의 BCMA CAR 발현 세포의 트래픽킹의 방지는, 임의의 BCMA CAR 발현 세포가 BCMA 발현 뇌 조직과 상호작용하거나 BCMA 발현 뇌 조직에 작용하는 것을 방지하기 위하여 바람직하다.

[0776] 일부 구현예에서, 대상체에게 CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제가 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 작용제는 억제성 분자를 억제하는 작용제일 수 있다. 예를 들어, 작용제는 체크포인트 억제제이다. 억제성 분자, 예를 들어 프로그래밍된 사멸 1(PD1)은 일부 구현예에서 면역 이펙터 반응을 일으키는 CAR 발현 세포의 능력을 감소시킬 수 있다. 억제성 분자의 예는 PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, CEACAM(예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3(CD276), B7-H4(VTCN1), HVEM(TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 부류 I, MHC 부류 II, GAL9, 아데노신, 및 TGFR 베타를 포함한다. 예를 들어 DNA, RNA 또는 단백질 수준에서의 억제에 의한 억제성 분자의 억제는 CAR 발현 세포 성능을 최적화할 수 있다. 구현예에서, 억제성 핵산, 예를 들어 억제성 핵산, 예를 들어 dsRNA, 예를 들어 siRNA 또는 shRNA, 또는 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복체(CRISPR), 전사 활성제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), 또는 징크 핑거 엔도뉴클레아제(ZFN)와 같은 억제성 핵산이 CAR 발현 세포에서 억제성 분자의 발현을 억제하기 위해 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 억제제는 shRNA이다. 일 구현예에서, 억제성 분자는 CAR 발현 세포 내에서 억제된다. 이들 구현예에서, 억제성 분자의 발현을 억제하는

dsRNA 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 암호화하는 핵산에 연결된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 억제성 분자의 억제제와 병용하여, 예컨대, 체크포인트 억제제와 병용하여, 예컨대, PD1 및/또는 PD-L1의 억제제와 병용하여 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 PD1 억제제와 조합하여 투여된다. 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 PD-L1 억제제와 조합하여 투여된다.

[0777] 일 구현예에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 암호화하는 핵산 분자는 T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자가 발현되도록, 예를 들어 CAR 발현 세포 내에서 발현되도록 프로모터, 예를 들어 H1- 또는 U6-유래 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, 문헌[Tiscornia *G.*, "Development of Lentiviral Vectors Expressing siRNA," Chapter 3, in *Gene Transfer: Delivery and Expression of DNA and RNA* (eds. Friedmann and Rossi). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 2007]; 문헌[Brummelkamp T*R, et al*. (200*2*) *Science* 296: 550-553]; 문헌[Miyagishi *M, et al*. (200*2*) *Nat. Biotechnol*. 19: 497-500] 참조. 일 구현예에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 암호화하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 동일한 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 존재한다. 이러한 구현예에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 암호화하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 암호화하는 핵산에 5'- 또는 3'-로 벡터, 예를 들어 렌티바이러스 벡터 상에 위치한다. T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 암호화하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 암호화하는 핵산과 동일하거나 상이한 방향으로 전사될 수 있다. 일 구현예에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 암호화하는 핵산 분자는 CAR의 성분, 예를 들어 모든 성분을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 벡터 이외의 벡터 상에 존재한다. 일 구현예에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 암호화하는 핵산 분자는 CAR 발현 세포 내에서 일시적으로 발현된다. 일 구현예에서, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 암호화하는 핵산 분자는 CAR 발현 세포의 게놈 내로 안정적으로 통합된다.

[0778] T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어 억제하는 분자의 발현을 억제하는 데 유용한 dsRNA 분자의 예로서, 이때, T-세포 기능을 조정 또는 조절, 예를 들어, 억제하는 분자가 PD-1인 예가 하기에 제공되어 있다.

[0779] 일부 구현예에서, 억제 신호의 억제제는 예를 들어 억제성 분자에 결합하는 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 예를 들어, 이러한 작용제는 PD1, PD-L1, PD-L2 또는 CTLA4에 결합하는 항체 또는 항체 단편일 수 있다(예를 들어 이필리무맙(MDX-010 및 MDX-101로도 지칭되며, Yervoy®로서 시판됨; Bristol-Myers Squibb); 트레멜리무맙(Pfizer로부터 입수 가능하며, 이전에 티실리무맙으로 알려져 있는 IgG2 단클론 항체, CP-675,206)). 일 구현예에서, 이러한 작용제는 TIM3에 결합하는 항체 또는 항체 단편이다. 일 구현예에서, 이러한 작용제는 LAG3에 결합하는 항체 또는 항체 단편이다. 구현예에서, CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제, 예를 들어, 억제성 분자의 억제제는 동종이계 CAR, 예를 들어, 본원에 기술된(예를 들어, 본원의 동종이계 CAR 섹션에 기술된) 동종이계 CAR과 조합하여 투여된다.

[0780] PD-1은 CD28, CTLA-4, ICOS, 및 BTLA를 또한 포함하는 CD28 패밀리의 수용체의 억제성 구성원이다. PD-1은 활성화된 B 세포, T 세포 및 골수 세포에서 발현된다(문헌[Agata et al. 1996 Int. Immunol 8:765-75]). PD-1에 대한 2개의 리간드, PD-L1 및 PD-L2는 PD-1에 대한 결합 시에 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 나타났다(문헌[Freeman et al. 2000 J Exp Med 192:1027-34]; 문헌[Latchman et al. 2001 Nat Immunol 2:261-8]; 문헌[Carter et al. 2002 Eur J Immunol 32:634-43]). PD-L1은 인간 암에서 풍부하다(문헌[Dong et al. 2003 J Mol Med 81:281-7]; 문헌[Blank et al. 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314]; 문헌[Konishi et al. 2004 Clin Cancer Res 10:5094]). 면역 억제는 PD-1과 PD-L1의 국소적 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있다. PD-1, PD-L1 및 PD-L2의 항체, 항체 단편 및 다른 억제제는 당해 분야에서 이용 가능하며, 본원에 기술된 본 발명의 CAR과 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어 니볼루맙(BMS-936558 또는 MDX1106으로도 지칭됨; 브리스톨-마이어스 스퀩)은 PD-1을 특이적으로 차단하는 완전 인간 IgG4 단클론 항체이다. PD-1에 특이적으로 결합하는 니볼루맙(클론 5C4) 및 다른 인간 단클론 항체는 미국 특허 제8,008,449호 및 국제 공개 제2006/121168호에 개시되어 있다. 피딜리주맙(CT-011; Cure Tech)은 PD-1에 결합하는 인간화 IgG1k 단클론 항체이다. 피딜리주맙 및 다른 인간화 항-PD-1 단클론 항체는 국제 공개 제2009/101611호에 개시되어 있다. 펨브롤리주맙(이전에 람브롤리주맙(lambrolizumab)으로도 알려져 있으며, MK03475로도 지칭됨; Merck)은 PD-1에 결합하는 인간화 IgG4 단클론 항체이다. 펨브롤리주맙 및 다른 인간화 항-PD-1 항체는 미국 특허 제8,354,509호 및 국제 공개 제

2009/114335호에 개시되어 있다. MEDI4736(Medimmune)은 PDL1에 결합하며, 리간드와 PD1의 상호작용을 억제하는 인간 단클론 항체이다. MDPL3280A(Genentech / Roche)는 PD-L1에 결합하는 인간 Fc 최적화된 IgG1 단클론 항체이다. MDPL3280A 및 PD-L1에 대한 다른 인간 단클론 항체는 미국 특허 제7,943,743호 및 미국 특허 공개 제20120039906호에 개시되어 있다. 다른 항-PD-L1 결합 작용제는 YW243.55.S70(중쇄 및 경쇄 가변 영역은 국제 공개 제2010/077634호에서 서열번호 20 및 21로 예시됨) 및 MDX-1 105(BMS-936559로도 지칭됨, 예를 들어 국제 공개 제2007/005874호에 개시된 항-PD-L1 결합제)를 포함한다. AMP-224(B7-DCIg; Amplimmune; 예를 들어 국제 공개 제2010/027827호 및 국제 공개 제2011/066342호에 개시됨)는 PD1과 B7-H1 간의 상호작용을 차단하는 PD-L2 Fc 융합 가용성 수용체이다. 다른 항-PD-1 항체는 AMP 514(Amplimmune), 다른 것들 중 특히, 예를 들어 미국 특허 제8,609,089호, 미국 특허 공개 제2010/028330호 및/또는 미국 특허 공개 제2012/0114649호에 개시된 항-PD-1 항체를 포함한다.

[0781] TIM3(T 세포 면역글로불린-3)은 또한 특히 IFN-g-분비 CD4+ T 헬퍼 1 및 CD8+ T 세포독성 1 세포에서 T 세포 기능을 음성적으로 조절하고, T 세포 소진에서 중요한 역할을 한다. TIM3과 이의 리간드, 예를 들어 갈렉틴-9(Gal9), 포스포티딜세린(PS), 및 HMGB1 사이의 상호작용의 억제는 면역 반응을 증가시킬 수 있다. TIM3 및 이의 리간드의 항체, 항체 단편, 및 다른 억제제는 당해 분야에서 이용 가능하고, 본원에 기술된 CD19 또는 BCMA CAR과 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어 TIM3을 표적화하는 항체, 항체 단편, 소분자, 또는 펩티드 억제제는 TIM3의 IgV 도메인에 결합하여, 이의 리간드와의 상호작용을 억제한다. TIM3을 억제하는 항체 및 펩티드는 국제 공개 제2013/006490호 및 미국 특허 공개 제20100247521호에 개시되어 있다. 다른 항-TIM3 항체는 인간화 버전의 RMT3-23(문헌[Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551]에 개시됨), 및 클론 8B.2C12(문헌[Monney et al., 2002, Nature, 415:536-541]에 개시됨)를 포함한다. TIM3 및 PD-1을 억제하는 이중특이적 항체는 미국 특허 공개 제2013/0156774호에 개시되어 있다.

[0782] 다른 구현예에서, CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 CEACAM 억제제(예를 들어 CEACAM-1, CEACAM-3, 및/또는 CEACAM-5 억제제)이다. 일부 구현예에서, CEACAM의 억제제는 항-CEACAM 항체 분자이다. 예시적인 항-CEACAM-1 항체, 예를 들어 단클론 항체 34B1, 26H7, 및 5F4가 국제 공개 제2010/125571호, 국제 공개 제2013/082366호, 국제 공개 제2014/059251호 및 국제 공개 제2014/022332호에 기술되어 있거나; 또는 이의 재조합 형태가 예를 들어 미국 특허 공개 제2004/0047858호, 미국 특허 제7,132,255호 및 국제 공개 제99/052552호에 기술된 바와 같다. 다른 구현예에서, 항-CEACAM 항체는 예를 들어 문헌[Zheng et al. *PLoS One*. 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529 (DOI:10:1371/journal.pone.0021146)]에 기술된 바와 같이 CEACAM-5에 결합하거나, 또는 예를 들어 국제 공개 제2013/054331호 및 미국 특허 공개 제2014/0271618호에 기술된 바와 같이 CEACAM-1 및 CEACAM-5와 교차반응한다.

[0783] 이론에 구애되고자 함이 없이, 암배아성 항원 세포 부착 분자(CEACAM), 예컨대 CEACAM-1 및 CEACAM-5는, 적어도 부분적으로, 항종양 면역 반응의 억제를 매개하는 것으로 여겨진다(예를 들어 문헌[Markel *et al*. *J Immunol*. 2002 Mar 15;168(6):2803-10]; 문헌[Markel et al. *J Immunol*. 2006 Nov 1;177(9):6062-71]; 문헌[Markel et al. *Immunology*. 2009 Feb;126(2):186-200]; 문헌[Markel et al. *Cancer Immunol Immunother*. 2010 Feb;59(2):215-30]; 문헌[Ortenberg et al. *Mol Cancer Ther*. 2012 Jun;11(6):1300-10]; 문헌[Stern et al. *J Immunol*. 2005 Jun 1;174(11):6692-701]; 문헌[Zheng et al. *PLoS One*. 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529] 참조). 예를 들어 CEACAM-1은 TIM-3에 대한 이종친화성 리간드로서 및 TIM-3-매개 T 세포 관용 및 소진에서 역할을 하는 것으로 기술되어 있다(예를 들어 국제 공개 제2014/022332호; 문헌[Huang, *et al*. (2014) *Nature* doi:10.1038/nature13848] 참조). 구현예에서, CEACAM-1 및 TIM-3의 공동 차단은 이종이식 결장직장암 모델에서 항종양 면역 반응을 증진시키는 것으로 밝혀진 바 있다(예를 들어 국제 공개 제2014/022332호; 상기 문헌[Huang, et al. (2014)] 참조). 다른 구현예에서, CEACAM-1 및 PD-1의 공동 차단은 예를 들어 국제 공개 제2014/059251호에 기술된 바와 같이 T 세포 관용을 감소시킨다. 따라서, CEACAM 억제제는 본원에 기술된 다른 면역조절제(예를 들어 항-PD-1 및/또는 항-TIM-3 억제제)와 함께 사용되어 암, 예를 들어 흑색종, 폐암(예를 들어 NSCLC), 방광암, 결장암, 난소암 및 본원에 기술된 바와 같은 다른 암에 대한 면역 반응을 증진시킬 수 있다.

[0784] LAG3(림프구 활성화 유전자-3 또는 CD223)은 CD8+ T 세포 소진에서 소정의 역할을 하는 것으로 밝혀진 바 있는, 활성화된 T 세포 및 B 세포 상에서 발현되는 세포 표면 분자이다. LAG3 및 이의 리간드의 항체, 항체 단편, 및 다른 억제제는 당해 분야에서 이용 가능하고, 본원에 기술된 CD19 또는 BCMA CAR과 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어 BMS-986016(Bristol-Myers Squib)은 LAG3을 표적화하는 단클론 항체이다. IMP701(Immutep)은 길항제 LAG3 항체이고, IMP731(Immutep 및 GlaxoSmithKline)은 고갈 LAG3 항체이다. 다른 LAG3 억제제는, MHC 부류 II 분자에 결합하고 항원 제시 세포(APC)를 활성화시키는 LAG3의 가용성 부분 및 Ig의 재조합 융합 단백질인

IMP321(Immutep)을 포함한다. 다른 항체는 예를 들어 국제 공개 제2010/019570호에 개시되어 있다.

[0785] 일부 구현예에서, CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 예를 들어 제1 도메인 및 제2 도메인을 포함하는 융합 단백질일 수 있고, 여기서 제1 도메인은 억제성 분자 또는 이의 단편이고, 제2 도메인은 양성 신호와 관련된 폴리펩티드, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같이 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드이다. 일부 구현예에서, 양성 신호와 관련된 폴리펩티드는 CD28, CD27, ICOS의 공동자극 도메인, 예를 들어 CD28, CD27 및/또는 ICOS의 세포내 신호전달 도메인, 및/또는 예를 들어 본원에 기술된, 예를 들어 CD3 제타의 일차 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 CAR을 발현하는 동일한 세포에 의해 발현된다. 또 다른 구현예에서, 융합 단백질은 항-BCMA CAR을 발현하지 않는 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포에 의해 발현된다.

[0786] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제는 miR-17-92이다.

[0787] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR의 활성을 증진시키는 작용제는 사이토카인이다. 사이토카인은 T 세포 확장, 분화, 생존, 및 항상성과 관련하여 중요한 기능을 갖는다. 본원에 기술된 CAR 발현 세포를 받는 대상체에게 투여될 수 있는 사이토카인은 다음을 포함한다: IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18, 및 IL-21, 또는 이들의 조합. 바람직한 구현예에서, 투여되는 사이토카인은 IL-7, IL-15, 또는 IL-21, 또는 이들의 조합이다. 사이토카인은 1일에 1회, 또는 1일에 1회 초과, 예를 들어 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 1일에 4회 투여될 수 있다. 사이토카인은 1일을 초과하여 투여될 수 있고, 예를 들어 사이토카인은 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주 또는 4주 동안 투여된다. 예를 들어 사이토카인은 7일 동안 1일에 1회 투여된다.

[0788] 구현예에서, 사이토카인은 CAR 발현 T 세포와 조합하여 투여된다. 사이토카인은 CAR 발현 T 세포와 동시에 또는 병행하여 투여될 수 있으며, 예를 들어 동일한 날에 투여될 수 있다. 사이토카인은 CAR 발현 T 세포와 동일한 제약 조성물 내에 제조될 수 있거나, 또는 개별 제약 조성물로 제조될 수 있다. 대안적으로, 사이토카인은 CAR 발현 T 세포의 투여 직후, 예를 들어 CAR 발현 T 세포의 투여 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 또는 7일 후에 투여될 수 있다. 사이토카인이 1일을 초과하여 이루어지는 투여 요법으로 투여되는 구현예에서, 사이토카인 투여 요법의 제1일은 CAR 발현 T 세포에 의한 투여와 동일한 날일 수 있거나, 또는 사이토카인 투여 요법의 제1일은 CAR 발현 T 세포의 투여 후 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 또는 7일 후일 수 있다. 일부 구현예에서, 제1일에 CAR 발현 세포가 대상체에게 투여되고, 제2일에 사이토카인이 다음 7일 동안 1일에 1회 투여된다. 바람직한 구현예에서, CAR 발현 T 세포와 조합하여 투여되는 사이토카인은 IL-7, IL-15, 또는 IL-21이다.

[0789] 다른 구현예에서, 사이토카인은 CAR 발현 세포의 투여의 충분한 기간 후, 예를 들어 CAR 발현 세포를 투여한지 적어도 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 10주, 12주, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 1년 이상 후에 투여된다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 CAR 발현 세포에 대한 대상체의 반응의 평가 후에 투여된다. 예를 들어 본원에 기술된 투여량 및 요법에 따라 대상체에게 CAR 발현 세포가 투여된다. CAR 발현 세포 요법에 대한 대상체의 반응은 종양 성장의 억제, 순환 종양 세포의 감소, 또는 종양 퇴행을 포함한 본원에 기술된 방법 중 임의의 것을 사용하여, CAR 발현 세포를 투여한지 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 10주, 12주, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 또는 1년 이상 후에 평가된다. CAR 발현 세포 요법에 대해 충분한 반응을 나타내지 않는 대상체에게 사이토카인이 투여될 수 있다. CAR 발현 세포 요법에 대해 준-최적 반응을 갖는 대상체에 대한 사이토카인의 투여는 CAR 발현 세포의 효능 및/또는 항암 활성을 개선한다. 바람직한 구현예에서, CAR 발현 세포의 투여 후에 투여되는 사이토카인은 IL-7이다.

[0790] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 BCMA CAR T 세포는 낮은, 면역 증진, 용량의 mTOR 억제제와 조합하여 사용될 수 있다. 본원에 기술된 방법은 낮은, 면역 증진, 용량의 mTOR 억제제, 예를 들어, 라파로그, 예컨대 RAD001을 포함한 알로스테릭 mTOR 억제제를 사용한다. 낮은, 면역 증진, 용량(예를 들어, 면역계를 완전히 억제하기에는 불충분하지만 면역 기능을 개선하기에는 충분한 용량)의 mTOR 억제제의 투여는 대상체에서 면역 이펙터 세포, 예를 들어, T 세포 또는 CAR 발현 세포의 성능을 최적화할 수 있다. mTOR 억제의 측정 방법, 투여량, 치료 요법, 및 적합한 제약 조성물은 본원에 참고로 포함되는 미국 특허 출원 제2015/01240036호에 기술되어 있다. mTOR 억제제와 BCMA CAR T 세포의 조합 방법은, 예를 들어, 전체가 본원에 참고로 포함되는 미국 특허 공개 제2016/0046724호의 단락 [0826] 내지 [0861] 참조.

[0791] **CAR 유효성 또는 샘플 적합성을 평가하기 위한 방법 및 바이오마커**

[0792] 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체(예를 들어, 암, 예를 들어, 혈액암을 갖는 대상체)에서 CAR 발현 세포 요법(예를 들어, BCMA CAR 요법)의 유효성, 또는 CAR 요법(예를 들어, BCMACAR 요법)을 위한 샘플(예를 들어, 분

리반출술 샘플)의 적합성을 평가하거나 모니터링하는 방법을 특징으로 한다. 방법은 CAR 요법에 대한 유효성, 또는 샘플 적합성의 값을 획득하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 값은 CAR 발현 세포 요법의 유효성 또는 적합성을 나타낸다.

[0793] 구현예에서, CAR 요법에 대한 유효성 또는 샘플 적합성의 값은 다음 중 1, 2, 3, 4, 5, 6개 이상(모두)의 측정치를 포함한다:

[0794] (i) 샘플(예를 들어, 분리반출술 샘플 또는 제조된 CAR 발현 세포 생성물 샘플) 내 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 더 어린 T 세포(예를 들어, 더 어린 CD4 또는 CD8 세포, 또는 감마/델타 T 세포), 또는 조기 기억 T 세포 또는 이의 조합 중 1, 2, 3종 이상(예를 들어, 모두)의 수준 또는 활성;

[0795] (ii) 샘플(예를 들어, 분리반출술 샘플 또는 제조된 CAR 발현 세포 생성물 샘플) 내 활성화 T_{EFF} 세포, 활성화 T_{REG} 세포, 더 노화된 T 세포(예를 들어, 더 노화된 CD4 또는 CD8 세포), 또는 후기 기억 T 세포 또는 이의 조합 중 1, 2, 3종 이상(예를 들어, 모두)의 수준 또는 활성;

[0796] (iii) 샘플(예를 들어, 분리반출술 샘플 또는 제조된 CAR 발현 세포 생성물 샘플) 내 면역 세포 소진 마커, 예를 들어 1, 2종 이상의 면역 체크포인트 억제제(예를 들어, PD-1, PD-L1, TIM-3 및/또는 LAG-3)의 수준 또는 활성. 일부 구현예에서, 면역 세포는 소진 표현형을 갖고, 예를 들어 적어도 2종의 소진 마커를 공동 발현하며, 예를 들어 PD-1 및 TIM-3을 공동 발현한다. 다른 구현예에서, 면역 세포는 소진 표현형을 갖고, 예를 들어 적어도 2종의 소진 마커를 공동 발현하며, 예를 들어 PD-1 및 LAG-3을 공동 발현한다;

[0797] (iv) 샘플(예를 들어, 분리반출술 샘플 또는 제조된 CAR 발현 세포 생성물 샘플) 내 예를 들어 CD4+ 또는 CD8+ T 세포 집단에서의 CD27 및/또는 CD45RO-(예를 들어, CD27+ CD45RO-) 면역 이펙터 세포의 수준 또는 활성;

[0798] (v) CCL20, IL-17a 및/또는 IL-6, PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3, CD57, CD27, CD122, CD62L, KLRG1로부터 선택된 바이오마커 중 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20종 이상의 수준 또는 활성;

[0799] (vi) CAR 발현 세포 생성물 샘플, 예를 들어 BCMA 발현 세포 생성물 샘플 내 사이토카인 수준 또는 활성(예를 들어, 사이토카인 레퍼토리의 품질); 또는

[0800] (vii) 제조된 CAR 발현 세포 생성물 샘플 내 CAR 발현 세포의 형질도입 효율.

[0801] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, CAR 발현 세포 요법은 복수(예를 들어, 집단)의 CAR 발현 면역 이펙터 세포, 예를 들어 복수(예를 들어, 집단)의 T 세포 또는 NK 세포, 또는 이의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, CAR 발현 세포 요법은 BCMACAR 요법이다.

[0802] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, (i) 내지 (vii) 중 1개 이상의 측정치는 대상체로부터 획득된 분리반출술 샘플로부터 수득된다. 분리반출술 샘플은 주입 또는 재주입 전에 평가될 수 있다.

[0803] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, (i) 내지 (vii) 중 1개 이상의 측정치는 제조된 CAR 발현 세포 생성물 샘플, 예를 들어 BCMACAR 발현 세포 생성물 샘플로부터 수득된다. 제조된 CAR 발현 세포 생성물은 주입 또는 재주입 전에 평가될 수 있다.

[0804] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 대상체는 CAR 발현 세포 요법을 제공 받기 전, 중, 또는 제공 받은 후에 평가된다.

[0805] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, (i) 내지 (vii) 중 1개 이상의 측정치는 유전자 발현, 유세포 분석법 또는 단백질 발현 중 1종 이상에 대한 프로파일을 평가한다.

[0806] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 방법은 (i) 내지 (vii) 중 1개 이상의 측정치에 기초하여 대상체를 반응자, 비-반응자, 재발자 또는 비-재발자로서 확인하는 단계를 추가로 포함한다.

[0807] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 반응자(예를 들어, 완전 반응자)는 비-반응자와 비교하여 보다 큰 수준 또는 활성의 GZMK, PPF1BP2, 또는 나이브 T 세포 중 1, 2종 이상(모두)을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0808] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 비-반응자는 반응자와 비교하여 보다 큰 수준 또는 활성의, IL22, IL-2RA, IL-21, IRF8, IL8, CCL17, CCL22, 이펙터 T 세포, 또는 조절 T 세포 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7종 이상(예를 들어, 모두)을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0809] 일부 구현예에서, 재발자는 비-재발자와 비교하여 증가된 발현 수준의, 다음의 유전자 중 1종 이상(예를 들어, 2, 3, 4종 또는 모두): MIR199A1, MIR1203, uc021ovp, ITM2C, 및 HLA-DQB1, 및/또는 비-재발자와 비교하여 감소된 발현 수준의, 다음의 유전자 중 1종 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11종, 또는 모두): PPIAL4D, TTTY10, TXLNG2P, MIR4650-1, KDM5D, USP9Y, PRKY, RPS4Y2, RPS4Y1, NCRNA00185, SULT1E1, 및 EIF1AY

[0810] 을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된 환자이다.

[0811] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 완전 반응자는 기준 값, 예를 들어 CD8+ T 세포의 비-반응자 백분율과 비교하여 보다 큰, 예를 들어 통계적으로 유의하게 보다 큰 백분율의 CD8+ T 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0812] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 완전 반응자는, 예를 들어 CD8+ 집단에서 기준 값, 예를 들어 CD27+ CD45RO- 면역 이펙터 세포의 비-반응자 수와 비교하여 보다 큰 백분율의 CD27+ CD45RO- 면역 이펙터 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0813] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 완전 반응자 또는 부분 반응자는 기준 값, 예를 들어 CD4+ T 세포의 비-반응자 백분율과 비교하여 보다 큰, 예를 들어 통계적으로 유의하게 보다 큰 백분율의 CD4+ T 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0814] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 완전 반응자는 기준 값, 예를 들어 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 더 어린 T 세포(예를 들어, 더 어린 CD4 또는 CD8 세포), 또는 조기 기억 T 세포의 비-반응자 수와 비교하여 보다 큰 백분율의 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 더 어린 T 세포(예를 들어, 더 어린 CD4 또는 CD8 세포, 또는 감마/델타 T 세포), 또는 조기 기억 T 세포 또는 이의 조합 중 1, 2, 3종 이상(예를 들어, 모두)을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0815] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 비-반응자는 기준 값, 예를 들어 활성화 T_{EFF} 세포, 활성화 T_{REG} 세포, 더 노화된 T 세포(예를 들어, 더 노화된 CD4 또는 CD8 세포), 또는 후기 기억 T 세포의 반응자 수와 비교하여 보다 큰 백분율의 활성화 T_{EFF} 세포, 활성화 T_{REG} 세포, 더 노화된 T 세포(예를 들어, 더 노화된 CD4 또는 CD8 세포), 또는 후기 기억 T 세포 또는 이의 조합 중 1, 2, 3종 이상(예를 들어, 모두)을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0816] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 비-반응자는 보다 큰 백분율의 면역 세포 소진 마커, 예를 들어 1, 2종 이상의 면역 체크포인트 억제제(예를 들어, PD-1, PD-L1, TIM-3 및/또는 LAG-3)를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다. 일부 구현예에서, 비-반응자는 반응자로부터의 PD-1 또는 LAG-3 발현 면역 이펙터 세포의 백분율과 비교하여 보다 큰 백분율의 PD-1, PD-L1, 또는 LAG-3 발현 면역 이펙터 세포(예를 들어, CD4+ T 세포 및/또는 CD8+ T 세포)(예를 들어, CAR 발현 CD4+ 세포 및/또는 CD8+ T 세포)를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0817] 일부 구현예에서, 비-반응자는 보다 큰 백분율의, 소진 표현형을 갖는 면역 세포, 예를 들어 적어도 2종의 소진 마커를 공동 발현하는, 예를 들어 PD-1, PD-L1 및/또는 TIM-3을 공동 발현하는 면역 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다. 다른 구현예에서, 비-반응자는 보다 큰 백분율의, 소진 표현형을 갖는 면역 세포, 예를 들어 적어도 2종의 소진 마커를 공동 발현하는, 예를 들어 PD-L1 및 LAG-3을 공동 발현하는 면역 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0818] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 비-반응자는 CAR 발현 세포 요법에 대해 반응자(예를 들어, 완전 반응자)와 비교하여 CAR 발현 세포 집단(예를 들어, BCMACAR+ 세포 집단)에서 보다 큰 백분율의 PD-1/ PD-L1+/LAG-3+ 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0819] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 부분 반응자는 CAR 발현 세포 집단(예를 들어, BCMACAR+ 세포 집단)에서 반응자보다 보다 큰 백분율의 PD-1/ PD-L1+/LAG-3+ 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0820] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 비-반응자는 CAR 발현 세포 집단(예를 들어, BCMACAR+ 세포 집단)에서 PD1/ PD-L1+ CAR+의 소진 표현형 및 LAG3의 공동 발현을 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0821] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 비-반응자는 반응자(예를 들어, 완전 반응자)와 비교하여 CAR

발현 세포 집단(예를 들어, BCMACAR+ 세포 집단)에서 보다 큰 백분율의 PD-1/ PD-L1+/TIM-3+ 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0822] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 부분 반응자는 CAR 발현 세포 집단(예를 들어, BCMACAR+ 세포 집단)에서 반응자보다 보다 큰 백분율의 PD-1/ PD-L1+/TIM-3+ 세포를 갖거나, 또는 갖는 것으로 확인된다.

[0823] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 분리반출술 샘플에서 CD8+ CD27+ CD45RO- T 세포의 존재는 CAR 발현 세포 요법(예를 들어, BCMACAR 요법)에 대한 대상체 반응의 양성 예측인자이다.

[0824] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 분리반출술 샘플에서 높은 백분율의 PD1+ CAR+ 및 LAG3+ 또는 TIM3+ T 세포는 CAR 발현 세포 요법(예를 들어, BCMACAR 요법)에 대한 대상체 반응의 불량한 예후 예측인자이다.

[0825] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, 반응자(예를 들어, 완전 또는 부분 반응자)는 다음의 프로파일 중 1, 2, 3종 이상(또는 모두)를 갖는다:

[0826] (i) 기준 값, 예를 들어 CD27+ 면역 이펙터 세포의 비-반응자 수와 비교하여 보다 큰 수의 CD27+ 면역 이펙터 세포를 가짐;

[0827] (ii) (i) 기준 값, 예를 들어 CD8+ T 세포의 비-반응자 수와 비교하여 보다 큰 수의 CD8+ T 세포를 가짐;

[0828] (iii) 기준 값, 예를 들어 1종 이상의 체크포인트 억제제를 발현하는 세포의 비-반응자 수와 비교하여, 보다 적은 수의, 1종 이상의 체크포인트 억제제, 예를 들어 PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3, 또는 KLRG-1, 또는 조합으로부터 선택된 체크포인트 억제제를 발현하는 면역 세포를 가짐; 또는

[0829] (iv) 기준 값, 예를 들어 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 나이브 CD4 세포, 비자극 기억 세포 또는 조기 기억 T 세포의 비-반응자 수와 비교하여, 보다 큰 수의, 휴지기 T_{EFF} 세포, 휴지기 T_{REG} 세포, 나이브 CD4 세포, 비자극 기억 세포 또는 조기 기억 T 세포 또는 이의 조합 중 1, 2, 3, 4종 이상(모두)을 가짐.

[0830] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, (vi)의 사이토카인 수준 또는 활성은 사이토카인 CCL20/MIP3a, IL17A, IL6, GM-CSF, IFNɣ, IL10, IL13, IL2, IL21, IL4, IL5, IL9 또는 TNFα, 또는 이의 조합 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8종 이상(또는 모두)으로부터 선택된다. 사이토카인은 IL-17a, CCL20, IL2, IL6, 또는 TNFa 중 1, 2, 3, 4종 이상(모두)으로부터 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 증가된 수준 또는 활성의 사이토카인은 IL-17a 및 CCL20 중 1종 또는 둘 다로부터 선택되고, 이는 증가된 반응성 또는 감소된 재발을 나타낸다.

[0831] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, (vii)에서 15% 이상의 형질도입 효율은 증가된 반응성 또는 감소된 재발을 나타낸다.

[0832] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 구현예에서, (vii)에서 15% 미만의 형질도입 효율은 감소된 반응성 또는 증가된 재발을 나타낸다.

[0833] 구현예에서, 본원의 방법에 의해 확인된 반응자, 비-반응자, 재발자 또는 비-재발자는 임상 기준에 따라 추가로 평가될 수 있다. 예를 들어, 완전 반응자는 치료에 대해 완전 반응, 예를 들어 완전 관해를 나타낸 질환, 예를 들어 암을 앓거나, 또는 암에 걸린 대상체로 확인된다. 완전 반응은 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 NCCN 가이드라인® 또는 문헌[Cheson et al, J Clin Oncol 17:1244 (1999)] 및 문헌[Cheson et al., "Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma", J Clin Oncol 25:579-586 (2007)](이들 모두는 전문이 본원에 참조로 포함됨)을 사용하여 확인될 수 있다. 부분 반응자는 치료에 대해 부분 반응, 예를 들어 부분 관해를 나타내는 질환, 예를 들어 암을 앓거나, 또는 암에 걸린 대상체로 확인된다. 부분 반응은, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 NCCN 가이드라인® 또는 Cheson 기준을 사용하여 확인될 수 있다. 비-반응자는 치료에 대해 반응을 나타내지 않는 질환, 예를 들어 암을 앓거나, 또는 암에 걸린 대상체로 확인되며, 예를 들어 이 환자는 안정 질환 또는 진행성 질환을 앓는다. 비-반응자는, 예를 들어 본원에 기술된 바와 같은 NCCN 가이드라인® 또는 Cheson 기준을 사용하여 확인될 수 있다.

[0834] 대안적으로, 또는 본원에 개시된 방법과 조합하여, 상기 값에 대응하여, 다음 중 1, 2, 3, 4종 이상을 수행한다:

[0835] 예를 들어 반응자 또는 비-재발자에게 CAR 발현 세포 요법의 투여;

[0836] 변경된 용량의 CAR 발현 세포 요법의 투여;

[0837] CAR 발현 세포 요법의 스케줄 또는 시간 경과의 변경;

[0838] 예를 들어 비-반응자 또는 부분 반응자에게 CAR 발현 세포 요법과 조합하여 추가의 작용제, 예를 들어 체크포인트 억제제, 예를 들어 본원에 기재된 체크포인트 억제제의 투여;

[0839] 비-반응자 또는 부분 반응자에게 CAR 발현 세포 요법을 사용한 처리 전에 대상체에서 더 어린 T 세포의 수를 증가시키는 요법의 투여;

[0840] 예를 들어 비-반응자 또는 부분 반응자로서 확인된 대상체에 대해 CAR 발현 세포 요법의 제조 방법의 변형, 예를 들어 CAR을 암호화하는 핵산을 도입하기 전에 더 어린 T 세포의 강화, 또는 형질도입 효율의 증가;

[0841] 예를 들어 비-반응자 또는 부분 반응자 또는 재발자에 대해 대체 요법의 투여; 또는 대상체가 비-반응자 또는 재발자이거나 또는 그러한 것으로 확인된 경우에, 예를 들어 CD25 고갈, 시클로포스파미드, 항-GITR 항체 또는 이의 조합의 투여 중 1종 이상에 의해 T_{REG} 세포 집단 및/또는 T_{REG} 유전자 서명의 감소.

[0842] 특정 구현예에서, 대상체는 항-GITR 항체에 의해 사전-처리된다. 특정 구현예에서, 대상체는 주입 또는 재주입 전 항-GITR 항체에 의해 처리된다.

[0843] **생체중합체 전달 방법**

[0844] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 하나 이상의 CAR 발현 세포는 생체중합체 스캐폴드, 예를 들어 생체중합체 임플란트를 통해 대상체에게 투여되거나 또는 전달될 수 있다. 생체중합체 스캐폴드는 본원에 기술된 CAR 발현 세포의 전달, 확장, 및/또는 분산을 지지하거나 또는 증진시킬 수 있다. 생체중합체 스캐폴드는 자연 발생적 또는 합성적일 수 있는 생체적합성(예를 들어 염증 또는 면역 반응을 실질적으로 유도하지 않음) 및/또는 생체분해성 중합체를 포함한다.

[0845] 적합한 생체중합체의 예는 단독의, 또는 임의의 다른 중합체 조성물과 임의의 농도 및 임의의 비로 조합된 한천, 아가로스, 알기네이트, 알기네이트/칼슘 포스페이트 시멘트(CPC), 베타-갈락토시다제(β-GAL), (1,2,3,4,6-펜타아세틸 a-D-갈락토스), 셀룰로오스, 키틴, 키토산, 콜라겐, 엘라스틴, 젤라틴, 히알루론산 콜라겐, 하이드록시아파타이트, 폴리(3-하이드록시부티레이트-코-3-하이드록시-헥사노에이트)(PHBHHx), 폴리(락티드), 폴리(카프로락톤)(PCL), 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLG), 폴리에틸렌 옥시드(PEO), 폴리(락트산-코-글리콜산)(PLGA), 폴리프로필렌 옥시드(PPO), 폴리비닐 알콜(PVA), 실크, 대두 단백질, 및 대두 단백질 단리물을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 생체중합체는 부착- 또는 이동-촉진 분자, 예를 들어 림프구의 콜라겐 수용체에 결합하는 콜라겐-모방체 펩티드, 및/또는 자극 분자에 의해 증대 또는 변형되어, 전달될 세포의 전달, 확장, 또는 기능, 예를 들어 항암 활성을 증진시킬 수 있다. 생체중합체 스캐폴드는 주사 가능한, 예를 들어 겔 또는 반-고체, 또는 고체 조성물일 수 있다.

[0846] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 CAR 발현 세포는 대상체에게의 전달 전에 생체중합체 스캐폴드 상에 시딩된다. 구현예에서, 생체중합체 스캐폴드는, 예를 들어 스캐폴드의 생체중합체에 혼입되거나 또는 접합된, 하나 이상의 본원에 기술된 추가 치료제(예를 들어 또 다른 CAR 발현 세포, 항체, 또는 소분자) 또는 CAR 발현 세포의 활성을 증진시키는 작용제를 추가로 포함한다. 구현예에서, 생체중합체 스캐폴드는, 예를 들어 종양 내로 주사되거나, 또는 종양에 또는 항종양 효과를 매개하기에 충분할 만큼 종양에 근접하여 외과적으로 이식된다. 생체중합체 조성물 및 이의 전달 방법의 추가의 예는 문헌[Stephan et al., *Nature Biotechnology*, 2015, 33:97-101]; 및 국제 공개 제2014/110591호에 기술되어 있다.

[0847] **제약 조성물 및 치료**

[0848] 본 발명의 제약 조성물은, 본원에 기술된 바와 같은 CAR 발현 세포, 예를 들어 복수의 CAR 발현 세포를 하나 이상의 제약상 또는 생리학상 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제와 조합하여 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 완충제, 예컨대 중성 완충 염수, 인산염 완충 염수 등; 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 덱스트란, 만니톨; 단백질; 폴리펩티드 또는 아미노산, 예컨대 글리신; 항산화제; 킬레이팅제, 예컨대 EDTA 또는 글루타티온; 아쥬반트(예를 들어 수산화알루미늄); 및 방부제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 일 양태에서 정맥 내 투여용으로 제형화된다.

[0849] 본 발명의 제약 조성물은 치료할(또는 예방할) 질환에 적절한 방식으로 투여될 수 있다. 투여의 양 및 빈도는 환자의 상태, 환자의 질환의 유형 및 중증도와 같은 인자에 의해 결정될 것이지만, 적절한 투여량은 임상 시험

에 의해 결정될 수 있다.

[0850] 일부 구현예에서, 제약 조성물은 예를 들어 내독소, 미코플라스마, 복제 적격 렌티바이러스(RCL), p24, VSV-G 핵산, HIV gag, 잔류 항-CD3/항-CD28 코팅 비드, 마우스 항체, 풀링된 인간 혈청, 소 혈청 알부민, 소 혈청, 배양 배지 성분, 벡터 패키징 세포 또는 플라스미드 성분, 박테리아 및 진균으로 이루어진 군으로부터 선택된 오염물이 실질적으로 없고, 예를 들어 검출 가능한 수준의 상기 오염물이 없다. 일부 구현예에서, 박테리아는 알칼리게네스 파에칼리스(Alcaligenes faecalis), 칸디다 알비칸스(Candida albicans), 에스케리키아 콜라이(Escherichia coli), 헤모필루스 인플루엔자(Haemophilus influenza), 네이세리아 메닌기티데스(Neisseria meningitides), 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa), 스타필로코쿠스 아우레우스(Staphylococcus aureus), 스트렙토코쿠스 뉴모니아(Streptococcus pneumonia), 및 스트렙토코쿠스 피오게네스(Streptococcus pyogenes) 군 A로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1가지이다.

[0851] "면역학적 유효량", "항-종양 유효량", "종양-억제 유효량", 또는 "치료량"이 표시되는 경우에, 투여할 본 발명의 조성물의 정확한 양은 연령, 체중, 종양 크기, 감염 또는 전이의 정도, 및 환자(대상체)의 상태에서의 개별 차이를 고려하여 의사가 결정할 수 있다. 본원에 기술된 T 세포를 포함하는 제약 조성물은 10^4 내지 10^9개 세포/kg 체중, 일부 경우에 10^5 내지 10^6개 세포/kg 체중(이러한 범위 내의 모든 정수값 포함)의 용량으로 투여될 수 있는 것으로 일반적으로 언급될 수 있다. T 세포 조성물은 또한 이러한 투여량으로 다회 투여될 수 있다. 세포는 면역요법에 통상적으로 알려져 있는 주입 기술을 사용함으로써 투여될 수 있다(예를 들어 문헌[Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988] 참조).

[0852] 특정 양태에서, 활성화된 T 세포를 대상체에게 투여하고 나서, 후속적으로 혈액을 재채취하고(또는 분리반출을 수행하고), 이렇게 얻은 T 세포를 본 발명에 따라 활성화하고, 이러한 활성화되고 확장된 T 세포를 환자에게 재주입하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 과정은 수 주마다 다회 실시될 수 있다. 특정 양태에서, T 세포는 10 cc 내지 400 cc의 혈액 채취로부터 활성화될 수 있다. 특정 양태에서, T 세포는 20 cc, 30 cc, 40 cc, 50 cc, 60 cc, 70 cc, 80 cc, 90 cc, 또는 100 cc의 혈액 채취로부터 활성화된다.

[0853] 본 발명의 조성물의 투여는 에어로졸 흡입, 주사, 섭취, 수혈, 체내이식(implantation) 또는 이식(transplantation)에 의한 것을 포함하는 임의의 편리한 방식으로 수행될 수 있다. 본원에 기술된 조성물은 경동맥, 피하, 피 내, 종양 내, 결절 내, 수질 내, 근육 내, 정맥 내(i.v.) 주사에 의해, 또는 복강 내로 환자에게 투여될 수 있다. 일 양태에서, 본 발명의 T 세포 조성물은 피 내 또는 피하 주사에 의해 환자에게 투여된다. 일 양태에서, 본 발명의 CAR 발현 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포) 조성물은 정맥 내 주사에 의해 투여된다. CAR 발현 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)의 조성물은 종양, 림프절, 또는 감염 부위 내로 직접 주사될 수 있다.

[0854] 특정의 예시적 양태에서, 대상체는 백혈구분리반출술을 받을 수 있고, 관심 세포, 예를 들어 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포)를 선택 및/또는 단리하기 위해 백혈구는 생체 외 채취, 강화, 또는 고갈된다. 이들 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포) 단리물은 당해 분야에 공지된 방법에 의해 확장될 수 있고, 본 발명의 하나 이상의 CAR 구축물이 도입될 수 있도록 처리됨으로써 본 발명의 CAR 발현 세포(예를 들어, CAR T 세포 또는 CAR 발현 NK 세포)를 생성할 수 있다. 이를 필요로 하는 대상체는 후속적으로 고용량 화학요법에 이어 말초 혈액 줄기 세포 이식을 이용한 표준 치료를 거칠 수 있다. 특정 양태에서, 이식 후 또는 이식과 동시에, 대상체는 본 발명의 확장된 CAR 발현 세포(예를 들어, CAR T 세포 또는 NK 세포)의 주입을 받는다. 추가의 양태에서, 확장된 세포는 수술 전에 또는 수술 이후에 투여된다.

[0855] 구현예에서, 림프구 고갈은 예를 들어 본원에 기술된 CAR, 예를 들어 본원에 기술된 BCMA 결합 CAR을 발현하는 하나 이상의 세포를 투여하기 전에 대상체에서 수행된다. 구현예에서, 림프구 고갈은 멜팔란, 시톡산, 시클로포스파미드 및 플루다라빈 중 하나 이상을 투여하는 것을 포함한다.

[0856] 환자에게 투여할 상기 치료제의 투여량은 치료되는 병태의 정확한 속성 및 치료제의 수용자에 따라 달라질 것이다. 인간 투여를 위한 투여량의 스케일링은 당해 분야에서 허용되는 관행에 따라 수행될 수 있다. 예를 들어 CAMPATH에 대한 용량은 일반적으로, 성인 환자의 경우에 예를 들어 1 내지 약 100 ㎎ 범위 내이고, 보통 1 내지 30일의 기간 동안 매일 투여될 것이다. 바람직한 1일 용량은 1일에 1 내지 10 ㎎이지만, 일부 경우에 1일에 최대 40 ㎎의 보다 많은 용량이 사용될 수 있다(미국 특허 제6,120,766호에 기술됨).

[0857] 일부 구현예에서, CAR은 예를 들어 시험관 내 전사를 이용해 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포) 내에 도입되고, 대상체(예를 들어, 인간)는 본 발명의 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)의

초기 투여를 받고, 본 발명의 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)가 1회 이상 후속 투여되며, 여기서, 1회 이상의 후속 투여는 이전 투여 후 15일 미만 내, 예를 들어, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2일 후에 투여된다. 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)의 1회 초과의 투여가 매주 대상체(예를 들어 인간)에게 투여되고, 예를 들어 본 발명의 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)의 2, 3 또는 4회 투여가 매주 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체(예를 들어, 인간 대상체)에게 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 매주 1회 초과 투여(예를 들어, 매주 2, 3 또는 4회 투여)한 후(본원에서 사이클이라고도 함), 1주 동안 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 투여하지 않고, 이어서 대상체에게 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 1회 이상 추가 투여(예를 들어, CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 매주 1회 초과 투여)한다. 또 다른 구현예에서, 대상체(예를 들어, 인간 대상체)는 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)를 1회 초과 사이클로 받으며, 각각의 사이클 사이의 시간은 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 또는 3일 미만이다. 일부 구현예에서, CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 주마다 3회 투여 동안 격일로 투여된다. 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR 면역 이펙터 세포(예를 들어 T 세포 또는 NK 세포)는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8주 이상 동안 투여된다.

[0858] 일 양태에서, BCMA CAR 발현 세포(예를 들어, BCMA CART 또는 BCMA CAR 발현 NK 세포)는 렌티 바이러스 벡터, 예컨대, 렌티바이러스를 사용하여 생성된다. 이러한 방식으로 생성된 CAR 발현 세포(예를 들어, CART 또는 CAR 발현 NK 세포)는 안정적인 CAR 발현을 나타낼 것이다.

[0859] 일 양태에서, CAR 발현 세포, 예를 들어 CART는 감마레트로바이러스 벡터, 예를 들어, 본원에 기술된 감마레트로바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터를 사용해 생성된다. 이러한 벡터를 사용하여 생성된 CART는 안정적인 CAR 발현을 가질 수 있다.

[0860] 일 양태에서, CAR 발현 세포(예를 들어, CART 또는 CAR 발현 NK 세포)는 형질도입 후 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15일 동안 CAR 벡터를 일시적으로 발현한다. CAR의 일시적 발현은 RNA CAR 벡터 전달에 의해 실행될 수 있다. 일 양태에서, CAR RNA는 전기천공에 의해 세포, 예를 들어, T 세포 또는 NK 세포 내로 형질도입된다.

[0861] 일시적으로 발현하는 CAR 발현 세포(예를 들어, CART 또는 CAR 발현 NK 세포)를 사용하여 (특히 뮤린 scFv 보유 CAR 발현 세포에 의해) 치료받는 환자에서 일어날 수 있는 잠재적인 문제는 다중 치료 후의 아나필락시스이다.

[0862] 이러한 이론에 구애됨이 없이, 이러한 아나필락시스 반응은 체액성 항-CAR 반응, 즉, 항-IgE 이소형을 갖는 항-CAR 항체를 발생시키는 환자에 의해 유발될 수 있는 것으로 여겨진다. 환자의 항체 생산 세포는 항원에의 노출에서 10 내지 14일 중단이 있을 때 IgG 이소형(아나필락시스를 유발하지 않음)으로부터 IgE 이소형으로 부류 전환을 거치는 것으로 생각된다.

[0863] 일시적 CAR 요법(예컨대, RNA 형질도입에 의해 생성된 것)의 과정 중에 환자가 항-CAR 항체 반응을 일으킬 위험이 클 경우, CAR 발현 세포(예를 들어, CART 또는 CAR 발현 NK 세포)의 주입 중단이 10 내지 14일 넘게 지속되어서는 안 된다.

[0864] **실시예**

[0865] 본 발명은 다음의 실험 실시예를 참조하여 추가로 상세히 기술된다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로 제공되고, 달리 명시되지 않는 한 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 본 발명은 어떠한 방식으로도 다음의 실시예로 제한되는 것으로 해석되어서는 안 되고, 대신에 본 명세서에 제공된 교시의 결과로서 분명해지는 임의의 및 모든 변형을 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0866] 추가의 설명 없이, 당업자는 선행하는 상세한 설명 및 다음의 예시적인 실시예를 사용하여, 본 발명의 화합물을 제조 및 이용하고 청구된 방법을 실시할 수 있는 것으로 여겨진다. 다음의 실시예는 본 발명의 다양한 양태를 구체적으로 나타내며, 실시예는 나머지 개시 내용을 어떠한 방식으로도 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0867] **실시예 1: 인간 BCMA CAR의 시험관 내 특성화**

[0868] 완전 인간 단쇄 가변 단편(scFv) 세트를 CD3제타 쇄 및 4-1BB 자극 분자들을 함유한 렌티바이러스 CAR 발현 벡터들 내로 클로닝하였다: R1B6, R1F2, R1G5, PI61, B61-10, B61-02, Hy03, 및 Hy52. 자동화 세포 리포터 분석을 이용하여 먼저 구축물들을 스크리닝한 다음, BCMA 발현("BCMA+" 또는 "BCMA 양성") 표적에 대한 이펙터 T 세포("BCMA CART" 또는 "BCMA CAR T 세포")의 반응의 양과 품질뿐만 아니라 1차 T 세포에서의 발현을 기반으로 하

여 최적의 클론을 선택하였다. 이펙터 T 세포 반응은 세포 확장, 증식, 배가, 사이토카인 생성 및 표적 세포 사멸 또는 세포용해 활성(탈과립화)을 포함하나 이에 한정되지는 않는다.

[0869] *BCMA CAR 렌티바이러스의 생성*

[0870] 위에서 언급된 모든 scFv 암호화 렌티바이러스 전달 벡터를 사용하여 VSVg 슈도타입형 렌티바이러스 입자 내로 패키징되는 게놈 물질을 생성하였다. CAR을 암호화하는 렌티바이러스 전달 벡터 DNA를 리포펙타민 시약과 조합하여 3가지의 패키징 성분 VSVg, gag/pol 및 rev와 혼합하여, Lenti-X 293T 세포(클론테크)를 형질감염시킨 후, 12 내지 18시간 후에 배지를 교체하였다. 배지 교환 30시간 후에, 배지를 수집하고, 여과하고, -80℃에 보관하였다.

[0871] *BCMA CAR JNL 및 자동화 시스템을 이용한 JNL 스크리닝 리포터 분석*

[0872] 리포터 분석을 위하여, BCMA CAR을 암호화하는 렌티바이러스를 96-웰 플레이트에서 자동화, 소규모 방식으로 두 가지의 상이한 세포 농도(40,000개 세포(1xH293) 또는 80,000개 세포(2x H293))의 HEK293 세포에서 생성하였으며, 여기서 바이러스를 함유하는 상청액을 형질감염 후 48시간 후에 수확하였고, Jurkat T 세포 리포터 세포주의 형질도입을 위해, 동결시키지 않고, 신선하게 사용하였다. Jurkat NFAT 루시퍼라제(JNL) 리포터 세포주는 급성 T 세포 백혈병 세포주 Jurkat에 기초한다. 세포주를 활성화 T 세포의 핵 인자(NFAT) 반응 요소의 제어 하에 루시퍼라제를 발현하도록 변형시켰다. BCMA CAR로의 형질도입을 위하여, 10,000개의 JNL 세포/96-웰 플레이트의 웰을 50㎕의 신선한 45 ㎛ 여과된 바이러스 함유 상청액으로 형질도입하였다. 표적 세포와 공동 배양하기 전에 이 플레이트를 5일 동안 배양하였다.

[0873] JNL 세포를 활성화시키기 위한 BCMA CAR의 기능적 능력을 평가하기 위하여, 이들을 상이한 이펙터 대 표적 세포 비율(E:T 비율)의 표적 암 세포와 공동 배양하여, 루시퍼라제 발현을 정량화함으로써 이들의 활성화를 판독하였다. scFv 기반의 CAR인 R1B6, R1F2, R1G5, PI61, B61-10, B61-02, Hy03, 및 Hy52를 평가하였다. CD19 JNL CAR 세포를 표적 특이적 대조군으로 사용하였고, 표적 세포가 없는 배지 단독은 음성 대조군으로 작용하였다.

[0874] 위에 언급된 5일간 형질도입된 JNL CAR 세포를 BCMA 양성 다발성 골수종(MM) 세포주인 KMS11 또는 BCMA 음성 대조군 역할을 하는 급성 림프구성 백혈병 세포주인 NALM6과 공동 배양하였다. 잔류 JNL CAR T 세포를 유세포 분석법에 의해 BCMA CAR 발현에 대해 평가하였다. 공동 배양물을 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터 대 표적(E:T) 비로 384-웰 플레이트에서 준비하고, 24시간 동안 배양한 후에, 활성화 JNL CAR T 세포에 의한 루시퍼라제의 발현을 Bright-Glo™ 루시퍼라제 분석 시스템(Promega, 미국 위스콘신 주 매디슨 소재)에 의해 정량화하였다. 각 웰로부터 방출되는 광량(발광)은 각각의 CAR에 의한 JNL 활성화의 직접적인 판독치였다. 발광 수준이 UTD 세포의 2배 이상일 때 JNL 세포가 활성화된 것으로 간주되었다. BCMA+ KMS11 세포주는 R1B6, R1F2, R1G5, PI61, B61-10, B61-02, Hy03, 및 Hy52를 발현하는 JNL 세포의 활성화를 초래하였다(도 1a 및 도 1c). BCMA CAR 중 어느 것도 BCMA 음성 세포주 NALM6에 의한 활성화를 보이지 않았다(도 1e 및 도 1f). 표적 세포가 없는 배지 단독은 시험한 CAR 형질도입 JNL 중 어느 것도 활성화시키지 않았다(도 1g 및 도 1h). FACS 분석은 형질도입된 JNL에서의 BCMA-CAR 발현이 상이한 정도로 검출되었음을 증명하였다: CAR%는 가장 활성인 JNL CART에서 KMS11 세포에 의한 JNL 활성화와 일반적으로 양의 상관관계가 있다(도 1b 및 도 1d).

[0875] *BCMA CAR T 세포의 생성*

[0876] 다음의 8종의 CAR을 1차 T 세포에서의 CAR 발현, 안정성 및 효능의 분석을 위해 선택하였다: R1B6, R1F2, R1G5, PI61, B61-10, B61-02, Hy03, 및 Hy52. BCMA CAR T 세포는 건강한 분리반출술 공여자로부터의 혈액으로 시작하여 생성되었는데, 이들의 T 세포(CD4+ 및 CD8+ 림프구)는 CD3+ T 세포에 대한 음성 선택에 의해 얻어졌다. 이들 세포를 T 세포 배지(RPMI1640, 10%의 열-불활성화 우태아혈청(FCS), 2 mM의 L-글루타민, 1x의 페니실린/스트렙토마이신, 100 μM의 비-필수 아미노산, 1 mM의 피루브산나트륨, 10 mM의 Hepes 및 55 μM의 2-머캅토에탄올) 중 1:3의 비(T 세포 대 비드)의 CD3/CD28 비드(Dynabeads® 인간 T-익스팬더(Expander) CD3/CD28, Thermo Fisher Scientific)의 첨가에 의해 활성화시켰다. T 세포를 24-웰 플레이트의 웰당 1 mL의 배지 중 $0.5x10^6$개의 T 세포로 37℃, 5% CO_2에서 배양하였다. 24시간 후, T 세포가 블라스팅(blasting) 중일 때, T 세포를 5의 감염 다중도(multiplicity of infection, MOI)의 BCMA CAR 바이러스로 형질도입시켰다. T 세포는 대수적 성장 패턴으로 분열하기 시작하였으며, 이를 ㎖당 세포 수를 측정함으로써 모니터링하고, T 세포를 2일마다 신선한 배지에 희석하고, 비드를 제거하고(de-bead), 제9일에 추가 분석을 위해 수확하였다. T 세포의 분취액을 염색하여 FACS Fortessa(BD)에서 제5일과 제9일에 유세포 분석법에 의해 CAR 발현을 측정하였다. 연구 등급(즉, 임상 등급 아님)의 제조 조건 하에서 모든 BCMA CAR T 세포를 생성하였다.

[0877] rBCMA_Fc-AF647 염색 세포의 유세포 분석법을 이용하여 제5일과 제9일에 CAR%와 MFI(평균 형광 강도)를 측정함으로써 BCMA-CAR 표면 발현 및 이의 안정성을 평가하였다(도 2 및 표 17). 제9일의 최종 생성물에서의 BCMA CAR 발현은 구축물마다 상이하여, 18%에서 42.4%의 범위이고, MFI는 672에서 5238의 범위이다. PALLAS 유래 클론 R1F2, R1B6, 및 R1G5, 그리고 하이브리도마 클론인 Hy03으로부터의 구축물은 제5일부터 제9일까지 약 30% 내지 50%의 CAR 손실을 보인 반면, PI61, B61-10 및 -02와 Hy52는 CAR 발현 백분율의 측면에서 상대적으로 안정적이었으나, 모든 CAR 구축물은 제5일부터 제9일까지 MFI의 감소를 보여주었는데, 이는 아마도 제9일에 휴지기에 있는 T 세포의 크기가 더 작기 때문일 것이었다. CAR T 세포 배양물의 세포 계수는, 형질도입되지 않은 T 세포("UTD")와 비교하는 경우, 정상적으로 확장하는 세포 능력에 대한 BCMA CAR을 함유하는 인간 scFv의 검출 가능한 음성 효과가 존재하지 않음을 나타내었다.

[0878] [표 17]

[0879] CAR 발현의 분석

[0880]

CAR 구축물	역가	T 세포에서의 CAR(%)		T 세포에서의 CAR MFI	
		제 5 일	제 9 일	제 5 일	제 9 일
R1B6	2.68E+08	40.0	27.4	24,420	2,367
R1F2	3.60E+08	48.8	22.7	4,716	672
R1G5	2.27E+08	52.0	30.7	29,113	5,238
PI61	1.71E+08	47.4	42.3	24,360	2,099
B61-10	7.06E+07	41.1	30.3	27,298	3,288
B61-02	8.16E+07	33.5	23.6	29,113	3,471
Hy03	4.96E+07	33.7	18.1	9,463	929
Hy52	7.03E+07	35.1	36.1	33,694	2,859

[0881] *BCMA CAR 재유도된 T 세포의 기능성 평가*

[0882] BCMA CAR-T 세포의 기능적 능력을 평가하기 위하여, 공동 배양물을 BCMA 양성 및 음성 암 세포주와 함께 준비하였다. CAR-T 세포를 해동하고, 계수하고, 표적 세포와 공동 배양하여 이들의 사멸 능력 및 사이토카인 분비를 판독하였다. BCMA CAR-클론 R1B6, R1F2, R1G5, B61-02, B61-10, PI61, Hy03, 및 Hy52를 시험하였다. 비-형질도입된 T 세포(UTD)를 비-표적화 T 세포 대조군으로서 사용하였다.

[0883] CART 세포를 20시간 동안 상이한 E:T 비율로 KMS11-Luc 및 NALM6-Luc 표적 세포와 공동 배양함으로써 CART 세포 사멸을 수행하였다. CAR T 세포 집단을 플레이팅 전의 동등한 백분율의 CAR 양성 세포에 대해 정규화하였다. Meso Scale Discovery(MSD; 미국 매릴랜드 주 게이더스버그 소재)를 사용하여 2.5:1의 이펙터 대 표적 비율의 표적 세포와 CAR-T 세포의 20시간의 공동 배양으로부터의 상청액에서 사이토카인 IFNγ를 측정하고, 각 사이토카인에 대한 결과를 공지된 표준물질을 이용하여 pg/ml로 계산하였다. 모든 분석은 단일 공급원의 공여자 세포로부터 2회 반복하여 수행하였다. 사멸 데이터는 모든 BCMA CAR 클론이 KMS11 암 세포를 효과적으로 사멸함을 보여준다(도 3a). 대조군 표적 세포 NALM6은 이들 BCMA 특이적 CAR 중 어느 것에 의해서도 사멸되지 않았다(도 3b). KMS11과 배양 시 IFN-γ를 생성하는 이들 CAR의 능력도 시험하였다(도 3c). BCMA CAR R1F2, R1G5 및 PI61은 가장 많은 양의 IFN-γ가 생성되게 하였다. 대조군 NALM6 세포로의 노출 후에 BCMA CART에 의해 생성되는 사이토카인의 수준은 낮았으며(도 3c), 이는 BCMA CAR에 의한 비특이적인 활성화가 없음을 나타낸다.

[0884] *결론*

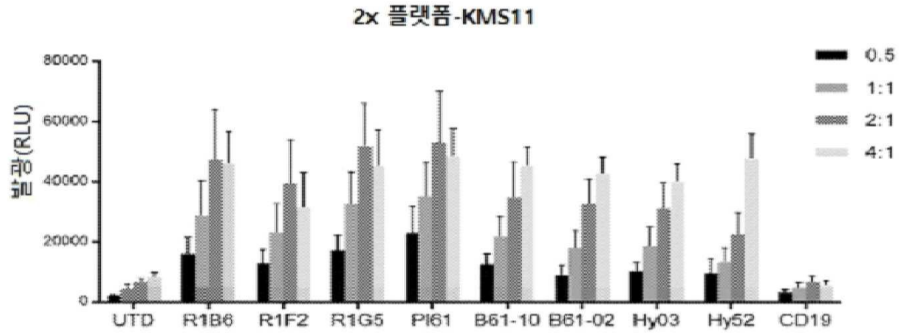
[0885] CAR T 세포의 맥락에서 새로운 BCMA 결합 scFv를 시험하였다. 8종의 CAR을 JNL 리포터 분석법 및 1차 T 세포에서 분석하였다: R1B6, R1F2, R1G5, B61-02, B61-10, PI61, Hy03, 및 Hy52. 모든 8종의 CAR-T 세포가 표적 특이적인 사멸을 보여주었다. R1F2, R1G5, 또는 PI61을 발현하는 T 세포는 표적 세포의 존재 하에 가장 많은 양의 IFN-γ를 생성하였다. 종합하면, 1차 T 세포로의 BCMA CAR의 전달은 항-BCMA CAR 반응성을 유도하였으나, 비표적(off-target) 기능은 유도하지 않았다.

[0886] **균등물**

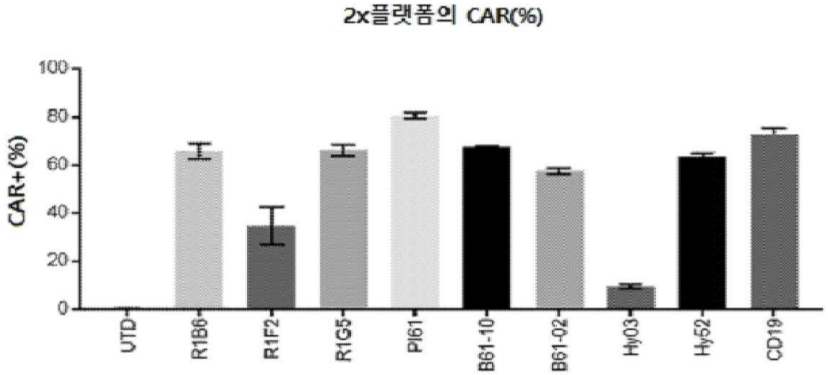
[0887] 본 명세서에서 인용된 각각의 및 모든 특허, 특허 출원 및 간행물의 개시 내용은 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다. 본 발명은 특정한 양태와 관련하여 개시되었지만, 당해 분야의 다른 당업자가 본 발명의 진정한 사상 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 본 발명의 다른 양태 및 변형을 고안할 수 있을 것임이 분명하다. 첨부된 청구범위는 모든 이러한 양태 및 등가의 변형을 포함하는 것으로 해석되도록 의도된다.

도면

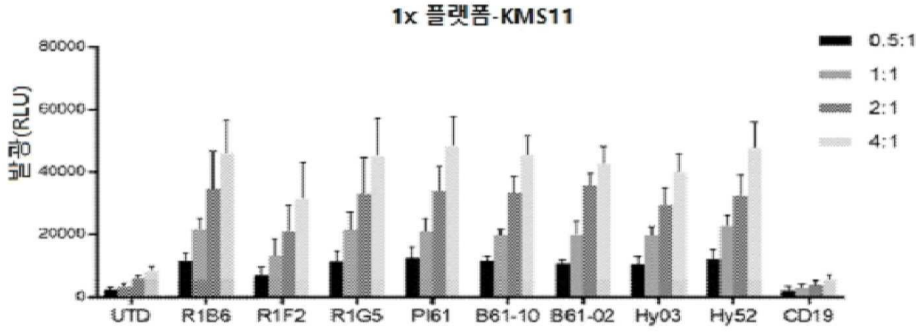
도면1a



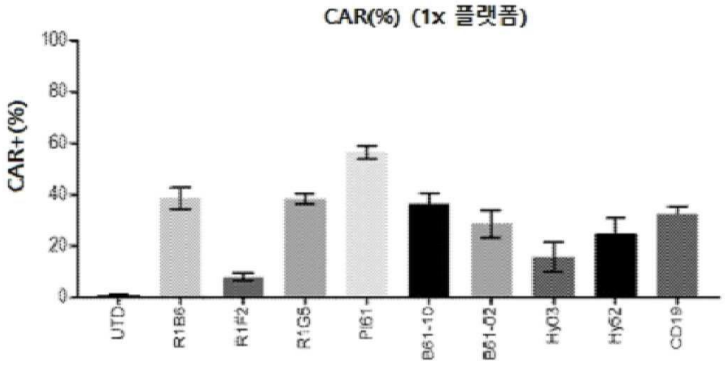
도면1b



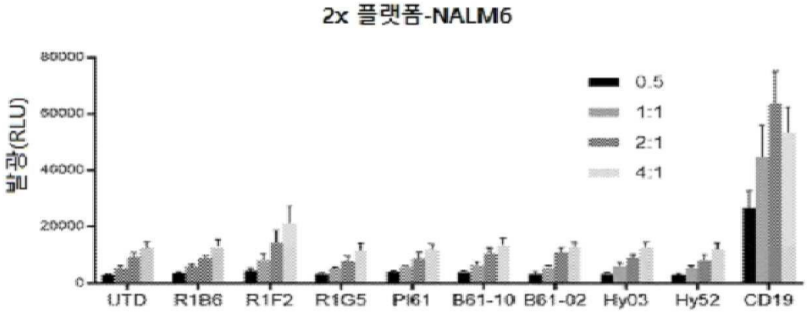
도면1c



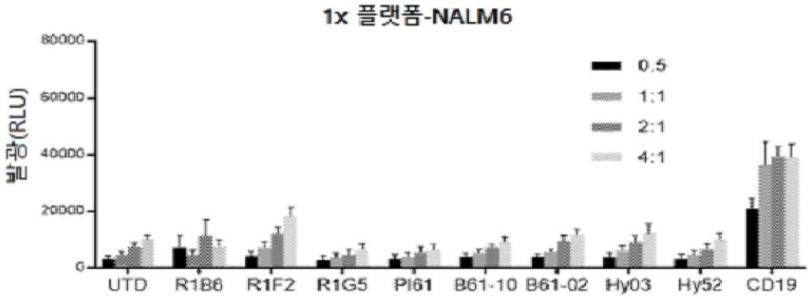
도면1d



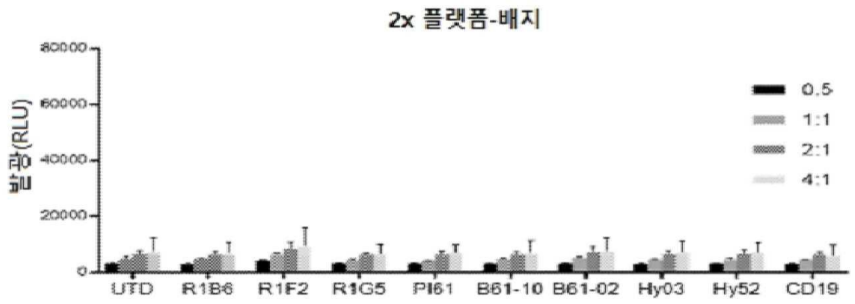
도면1e



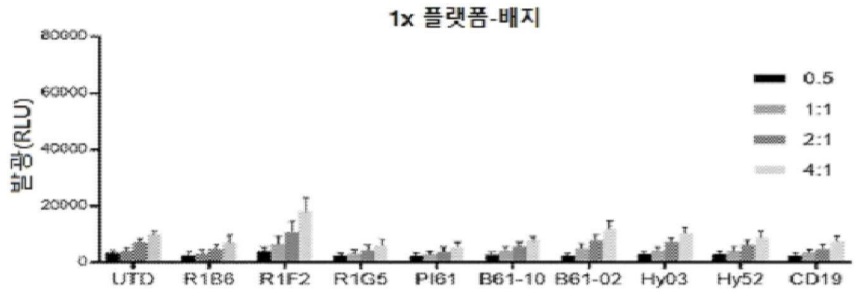
도면1f



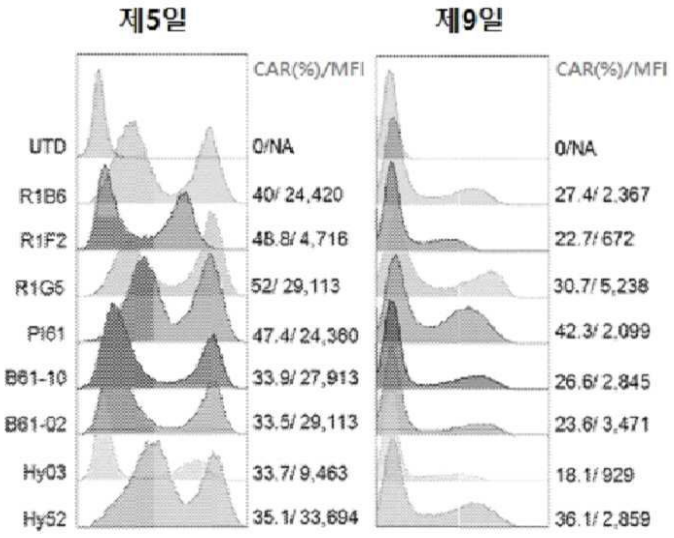
도면1g



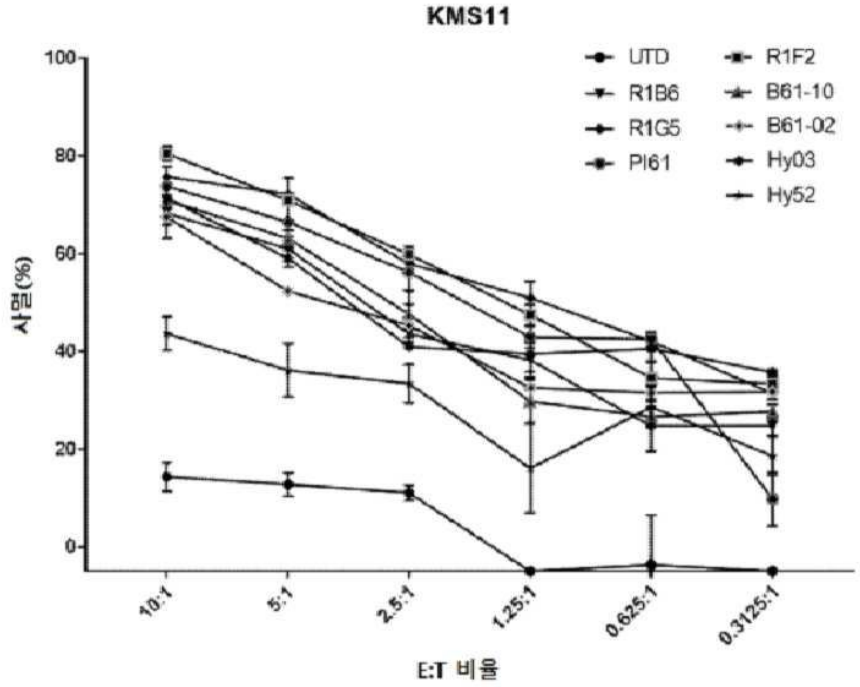
도면1h



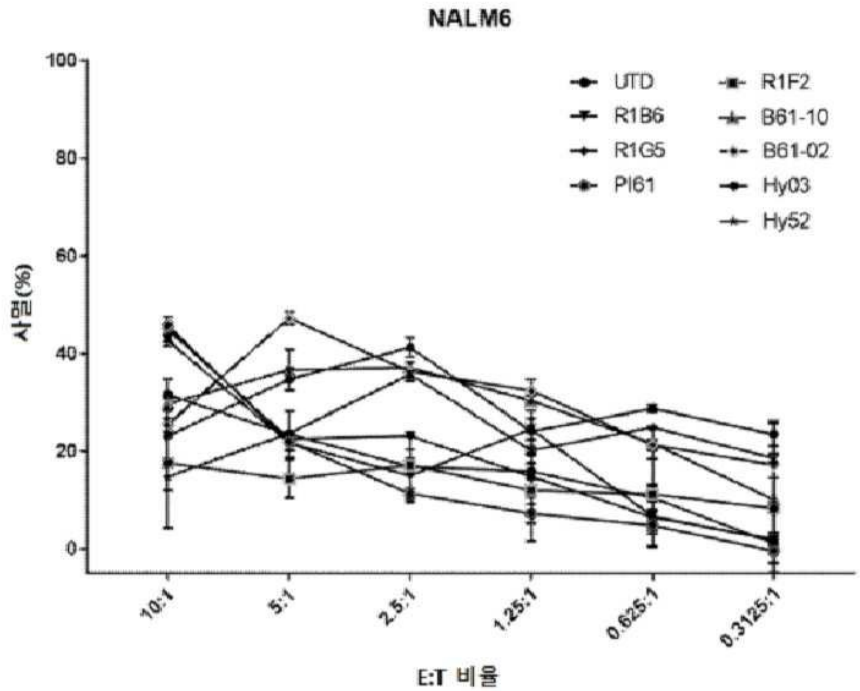
도면2



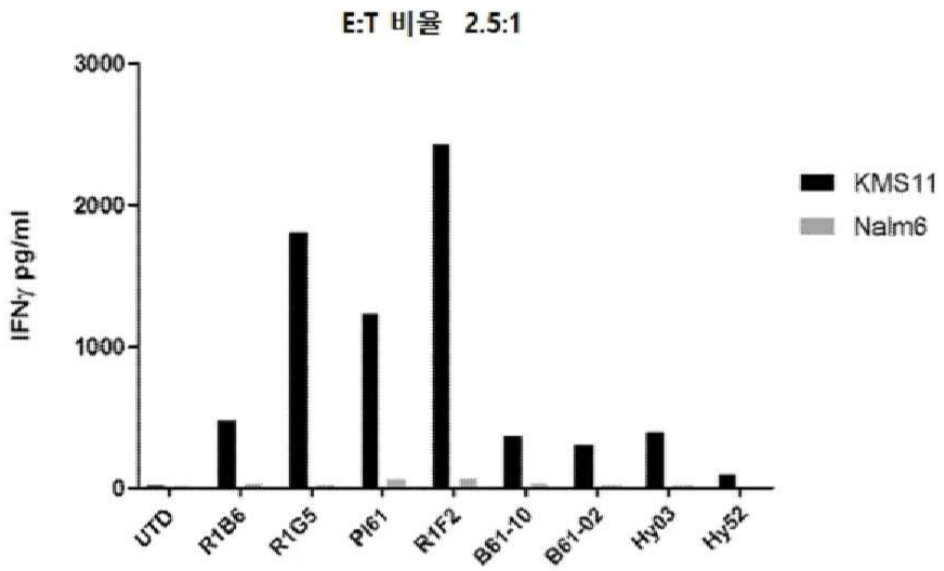
도면3a


KMS11
UTD
R1B6
R1G5
PI61
R1F2
B61-10
B61-02
Hy03
Hy52
사멸(%)
100
80
60
40
20
0
10:1
5:1
2.5:1
1.25:1
0.625:1
0.3125:1
E:T 비율

도면3b


NALM6
UTD
R1B6
R1G5
PI61
R1F2
B61-10
B61-02
Hy03
Hy52
사멸(%)
100
80
60
40
20
0
10:1
5:1
2.5:1
1.25:1
0.625:1
0.3125:1
E:T 비율

도면3c



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> NOVARTIS AG

<120> BCMA CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS AND USES THEREOF

<130> N2067-7155WO

<140><141><150> 62/832,991

<151> 2019-04-12

<150> 62/684,628

<151> 2018-06-13

<160> 285

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 1

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro
20

<210> 2

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 2

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp

35 40 45

<210> 3

<211> 230

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 3

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 Met

225 230

<210> 4

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 4

Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys

35 40 45

Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly

85 90 95

Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val

100 105 110

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

115 120 125

Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys

165 170 175

Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser

180 185 190

Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu

195 200 205

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

210 215 220

Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser

225 230 235 240

Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr

245 250 255

Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg
260 265 270
Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His
275 280

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 5
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 6
<211> 24
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<400> 6
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

<210> 7
<211> 42
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 7

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> 8

<211> 48

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 8

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

<210

> 9

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 9

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys 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> 10
<211> 112
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 10
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> 11
<211> 1184
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 11

cgtgaggctc cggtgcccgt cagtgggcag agcgcacatc gcccacagtc cccgagaagt 60

tgggggggagg ggtcggcaat tgaaccggtg cctagagaag gtggcgcggg gtaaactggg 120

aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccgaggg tgggggagaa ccgtatataa 180

gtgcagtagt cgccgtgaac gttcttttttc gcaacgggtt tgccgccaga acacaggtaa 240

gtgccgtgtg tggttcccgc gggcctggcc tctttacggg ttatggccct tgcgtgcctt 300

gaattacttc cacctggctg cagtacgtga ttcttgatcc cgagcttcgg gttggaagtg 360

ggtgggagag ttcgaggcct tgcgcttaag gagccccttc gcctcgtgct tgagttgagg 420

cctggcctgg gcgctggggc cgccgcgtgc gaatctggtg gcaccttcgc gcctgtctcg 480

ctgctttcga taagtctcta gccatttaaa atttttgatg acctgctgcg acgcttttt 540

tctggcaaga tagtcttgta aatgcgggcc aagatctgca cactggtatt tcggtttttg 600

gggccgcggg cggcgacggg gcccgtgcgt cccagcgcac atgttcggcg aggcggggcc 660

tgcgagcgcg gccaccgaga atcggacggg ggtagtctca agctggccgg cctgctctgg 720

tgcctggcct cgcgccgccg tgtatcgccc cgccctgggc ggcaaggctg gcccggtcgg 780

caccagttgc gtgagcggaa agatggccgc ttcccggccc tgctgcaggg agctcaaaat 840

ggaggacgcg gcgctcggga gagcgggcgg gtgagtcacc cacacaaagg aaaagggcct 900

ttccgtcctc agccgtcgct tcatgtgact ccacggagta ccgggcgccg tccaggcacc 960

tcgattagtt ctcgagcttt tggagtacgt cgtctttagg ttgggggggag gggttttatg 1020

cgatggagtt tccccacact gagtgggtgg agactgaagt taggccagct tggcacttga 1080

tgtaattctc cttggaattt gccctttttg agtttggatc ttggttcatt ctcaagcctc 1140

agacagtggt tcaaagtttt tttcttccat ttcaggtgtc gtga 1184

<210> 12

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 12

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60

ccc 63

<210> 13

<211> 135

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 13

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60

tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggcgc cagtgcacac gaggggctg 120

gacttcgcct gtgat 135

<210> 14

<211> 690

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 14

gagagcaagt acggccctcc ctgcccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggaccc 60

agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgag 120

gtgacctgtg tggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180

gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc 240

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300

tacaagtgta aggtgtccaa caagggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag 360

gccaagggcc agcctcggga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcca agaggagatg 420

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggct tctaccccag cgacatcgcc 480

gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540

gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag 600

gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 660

aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690

<210> 15

<211> 847

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 15

aggtggcccg aaagtcccaa ggcccaggca tctagtgttc ctactgcaca gccccaggca 60

gaaggcagcc tagccaaagc tactactgca cctgccacta cgcgcaatac tggccgtggc 120

ggggaggaga agaaaaagga gaaagagaaa gaagaacagg aagagaggga gaccaagacc 180

cctgaatgtc catcccatac ccagccgctg ggcgtctatc tcttgactcc cgcagtacag 240

gacttgtggc ttagagataa ggccaccttt acatgtttcg tcgtgggctc tgacctgaag 300

gatgcccatt tgacttggga ggttgccgga aaggtaccca cagggggggt tgaggaaggg 360

ttgctggagc gccattccaa tggctctcag agccagcact caagactcac ccttccgaga 420

tccctgtgga acgccgggac ctctgtcaca tgtactctaa atcatcctag cctgccccca 480

cagcgtctga tggcccttag agagccagcc gcccaggcac cagttaagct tagcctgaat 540

ctgctcgcca gtagtgatcc cccagaggcc gccagctggc tcttatgcga agtgtccggc 600

tttagcccgc ccaacatctt gctcatgtgg ctggaggacc agcgagaagt gaacaccagc 660

ggcttcgctc cagcccggcc cccaccccag ccgggttcta ccacattctg ggcctggagt 720

gtcttaaggg tcccagcacc acctagcccc cagccagcca catacacctg tgttgtgtcc 780

catgaagata gcaggaccct gctaaatgct tctaggagtc tggaggtttc ctacgtgact 840

gaccatt 847

<210> 16

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 16

ggtggcggag gttctggagg tggaggttcc 30

<210> 17

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 17

atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60

acccttact gc 72

<210> 18

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 18

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120

gaactg 126

<210> 19

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400

> 19

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60

gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120

tcc 123

<210> 20

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 20

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 21

<211> 336

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 21

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 22

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 22

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr

35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu

50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu

65 70 75 80

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn

85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala

165 170 175

Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe

180 185 190

Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val

195 200 205

Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys

210 215 220

Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr

225 230 235 240

Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu

245 250 255

Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro

260 265 270

Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly

325 330 335

Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln

340 345 350

Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln

355 360 365

Ala Leu Pro Pro Arg

370

<210> 23

<211> 1182

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 23

atggccctcc ctgtcactgc cctgcttctc cccctcgcac tcctgctcca cgccgctaga 60

ccacccggat ggtttctgga ctctccggat cgcccgtgga atcccccaac cttctcaccg 120

gcactcttgg ttgtgactga gggcgataat gcgaccttca cgtgctcgtt ctccaacacc 180

tccgaatcat tcgtgctgaa ctggtaccgc atgagcccgt caaaccagac cgacaagctc 240

gccgcgtttc cggaagatcg gtcgcaaccg ggacaggatt gtcggttccg cgtgactcaa 300

ctgccgaatg gcagagactt ccacatgagc gtggtccgcg ctaggcgaaa cgactccggg 360

acctacctgt gcggagccat ctcgctggcg cctaaggccc aaatcaaaga gagcttgagg 420

gccgaactga gagtgaccga gcgcagagct gaggtgccaa ctgcacatcc atccccatcg 480

cctcggcctg cggggcagtt tcagaccctg gtcacgacca ctccggcgcc gcgcccaccg 540

actccggccc caactatcgc gagccagccc ctgtcgctga ggccggaagc atgccgccct 600

gccgccggag gtgctgtgca tacccgggga ttggacttcg catgcgacat ctacatttgg 660

gctcctctcg ccggaacttg tggcgtgctc cttctgtccc tggtcatcac cctgtactgc 720

aagcggggtc ggaaaaagct tctgtacatt ttcaagcagc ccttcatgag gcccgtgcaa 780

accacccagg aggaggacgg ttgctcctgc cggttccccg aagaggaaga aggaggttgc 840

gagctgcgcg tgaagttctc ccggagcgcc gacgcccccg cctataagca gggccagaac 900

cagctgtaca acgaactgaa cctgggacgg cgggaagagt acgatgtgct ggacaagcgg 960

cgcggccggg accccgaaat gggcgggaag cctagaagaa agaaccctca ggaaggcctg 1020

tataacgagc tgcagaagga caagatggcc gaggcctact ccgaaattgg gatgaaggga 1080

gagcggcgga ggggaaaggg gcacgacggc ctgtaccaag gactgtccac cgccaccaag 1140

gacacatacg atgccctgca catgcaggcc cttccccctc gc 1182

<210> 24

<211> 394

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 24

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro
20 25 30

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

Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe

85 90 95

Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg

130 135 140

Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser

145 150 155 160

Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Thr Thr Thr Pro Ala

165 170 175

Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala

210 215 220

Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

225 230 235 240

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

245 250 255

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

260 265 270

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

275 280 285

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn

290 295 300

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg

305 310 315 320

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro

325 330 335

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala

340 345 350

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His

355 360 365

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

370 375 380

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

385 390

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 25

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 26

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(30)

<223> /note="This sequence may encompass 1-6 'Gly Gly Gly Gly Ser' repeating units"

<220>

<221> source

<223> /note="See specification as filed for detailed description of substitutions and preferred embodiments"

<400> 26

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 27

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 27

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 28

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

1 5 10 15

<210> 29

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 29

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 30

<211> 5000

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5000)

<223> /note="This sequence may encompass 50-5000 nucleotides"

<220>

<221> source

<223> /note="See specification as filed for detailed description of substitutions and preferred embodiments"

<400> 30

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2520

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2580

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2700

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2820

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 31

<211> 100

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 31

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 60

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 100

<210> 32

<211> 5000

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5000)

<223> /note="This sequence may encompass 50-5000 nucleotides"

<400> 32

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 60

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 120

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 180

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 240

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 300

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 360

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 420

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 480

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 540

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 600

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 660

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 720

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 780

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 840

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 900

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 960

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1020

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1080

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1140

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1200

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1260

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1320

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1380

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1440

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1500

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1560

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1620

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1680

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1740

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1800

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1860

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1920

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1980

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2040

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2100

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2160

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2220

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2280

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2340

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2400

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2460

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2520

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2580

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2640

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2700

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2760

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2820

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2880

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 2940

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3000

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3060

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3120

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3180

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3240

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3300

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3360

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3420

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3480

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3540

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3600

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3660

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3720

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3780

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3840

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3900

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3960

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4020

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4080

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4140

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4200

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4260

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4320

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4380

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4440

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4500

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4560

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4620

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4680

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4740

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4800

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4860

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4920

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4980

tttttttttt tttttttttt 5000

<210> 33

<211> 5000

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5000)

<223> /note="This sequence may encompass 100-5000 nucleotides"

<400

> 33

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2460

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2520

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2580

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2640

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2700

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2820

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2940

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3000

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3060

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5000

<210> 34

<211> 400

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(400)

<223> /note="This sequence may encompass 100-400 nucleotides"

<220>

<221> source

<223> /note="See specification as filed for detailed description of

substitutions and preferred embodiments"

<400> 34

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 400

<210> 35

<211> 2000

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2000)

<223> /note="This sequence may encompass 50-2000 nucleotides"

<400> 35

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 480

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 540

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 660

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 720

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 780

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1500

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1560

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1680

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1740

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2000

<210> 36

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 36

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> 37

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 37

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60

gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120

tcc 123

<210> 38

<211> 35

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 38

Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
1 5 10 15

Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Asp
20 25 30

Val Thr Leu
35

<210> 39

<211> 105

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 39

acaaaaaaga agtattcatc cagtgtgcac gaccctaacg gtgaatacat gttcatgaga 60

gcagtgaaca cagccaaaaa atccagactc acagatgtga cccta 105

<210> 40

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 40

ggtggcggag gttctggagg tggggttcc 30

<210> 41

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<220>
<221> source
<223> /note="See specification as filed for detailed description of substitutions and preferred embodiments"
<400> 41
Gly Gly Gly Ser
1
<210> 42
<211> 40
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<220><221> SITE
<222> (1)..(40)
<223> /note="This sequence may encompass 1-10 'Gly Gly Gly Ser' repeating units"
<220>
<221> source
<223> /note="See specification as filed for detailed description of substitutions and preferred embodiments"
<400> 42
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
35 40
<210> 43

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 43

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 44

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 44

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 45

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

1 5 10 15

Gly

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 46

Arg Glu Trp Val Pro Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 47

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 48

Ser Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 49

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 49

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 50

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 50

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 51

Ala Arg Arg Glu Trp Val Pro Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 52

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 52

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

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

<210> 53
<211> 369

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 53

gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60
agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120
cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180
gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240
ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tgggtgccct acgatgtcag ctggtacttc gactactggg gacagggcac tctcgtgact 360

gtgtcctcc 369

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 54

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 55

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 56

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 57

Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 58

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 58

Ala Ala Ser

1

<210> 59

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 59

Ser Tyr Ser Thr Pro Leu

1 5

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 60

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 62

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 62

gacattcaaa tgactcagtc cccgtcctcc ctctccgcct ccgtgggaga tcgcgtcacg 60

atcacgtgca gggccagcca gagcatctcc agctacctga actggtacca gcagaagcca 120

gggaaggcac cgaagctcct gatctacgcc gctagctcgc tgcagtccgg cgtcccttca 180

cggttctcgg gatcgggctc aggcaccgac ttcaccctga ccattagcag cctgcagccg 240

gaggacttcg cgacatacta ctgtcagcag tcatactcca ccctctgac cttcggccaa 300

gggaccaaag tggagatcaa g 321

<210> 63

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 63

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 64

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Glu Trp Val Pro Tyr Asp Val Ser Trp Tyr Phe Asp Tyr

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp

130 135 140

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

145 150 155 160

Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu

165 170 175

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu

210 215 220

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

225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245 250

<210> 65

<211> 750

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 65

gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60

agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120

cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180

gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240

ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tgggtgccct acgatgtcag ctggtacttc gactactggg gacagggcac tctcgtgact 360

gtgtcctccg gtggtggtgg atcgggggggt ggtggttcgg gcggaggagg atctggagga 420

ggagggtcgg acattcaaat gactcagtcc ccgtcctccc tctccgcctc cgtgggagat 480

cgcgtcacga tcacgtgcag ggccagccag agcatctcca gctacctgaa ctggtaccag 540

cagaagccag ggaaggcacc gaagctcctg atctacgccg ctagctcgct gcagtccggc 600

gtcccttcac ggttctcggg atcgggctca ggcaccgact tcaccctgac cattagcagc 660

ctgcagccgg aggacttcgc gacatactac tgtcagcagt catactccac ccctctgacc 720

ttcggccaag ggaccaaagt ggagatcaag 750

<210> 66

<211> 473

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 66

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
275 280 285
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
290 295 300
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys

305 310 315 320

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg

325 330 335

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro

340 345 350

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser

355 360 365

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu

370 375 380

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg

385 390 395 400

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

405 410 415

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr

420 425 430

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp

435 440 445

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

450 455 460

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

465 470

<210> 67

<211> 1419

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 67

gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60

agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120

cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180

gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240

ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tgggtgccct acgatgtcag ctggtacttc gactactggg gacagggcac tctcgtgact 360

gtgtcctccg gtggtggtgg atcgggggggt ggtggttcgg gcggaggagg atctggagga 420

ggagggtcgg acattcaaat gactcagtcc ccgtcctccc tctccgcctc cgtgggagat 480

cgcgtcacga tcacgtgcag ggccagccag agcatctcca gctacctgaa ctggtaccag 540

cagaagccag ggaaggcacc gaagctcctg atctacgccg ctagctcgct gcagtccggc 600

gtcccttcac ggttctcggg atcgggctca ggcaccgact tcaccctgac cattagcagc 660

ctgcagccgg aggacttcgc gacatactac tgtcagcagt catactccac ccctctgacc 720

ttcggccaag ggaccaaagt ggagatcaag accactaccc cagcaccgag gccacccacc 780

ccggctccta ccatcgcctc ccagcctctg tccctgcgtc cggaggcatg tagacccgca 840

gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt gacttcgcct gcgatatcta catttgggcc 900

cctctggctg gtacttgcgg ggtcctgctg ctttcactcg tgatcactct ttactgtaag 960

cgcggtcgga agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1020

actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1080

ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct accagcaggg gcagaaccag 1140

ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1200

ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atccccaaga gggcctgtac 1260

aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1320

cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1380

acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg ccgcctcgg 1419

<210> 68

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 68

Arg Glu Trp Trp Tyr Asp Asp Trp Tyr Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 69

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 69

Ala Arg Arg Glu Trp Trp Tyr Asp Asp Trp Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 70

<211

> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 70

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Glu Trp Trp Tyr Asp Asp Trp Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 71

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 71

gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60

agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120

cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180

gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240

ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tggtggtacg acgattggta cctggactac tggggacagg gcactctcgt gactgtgtcc 360

tcc 363

<210> 72

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 72

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

<210> 73
<211> 744
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 73

gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60

agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120

cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180

gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240

ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tggtggtacg acgattggta cctggactac tggggacagg gcactctcgt gactgtgtcc 360

tccggtggtg gtggatcggg gggtggtggt tcgggcggag gaggatctgg aggaggaggg 420

tcggacattc aaatgactca gtccccgtcc tccctctccg cctccgtggg agatcgcgtc 480

acgatcacgt gcagggccag ccagagcatc tccagctacc tgaactggta ccagcagaag 540

ccagggaagg caccgaagct cctgatctac gccgctagct cgctgcagtc cggcgtccct 600

tcacggttct cgggatcggg ctcaggcacc gacttcaccc tgaccattag cagcctgcag 660

ccggaggact tcgcgacata ctactgtcag cagtcatact ccacccctct gaccttcggc 720

caagggacca aagtggagat caag 744

<210> 74

<211> 471

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 74

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Glu Trp Trp Tyr Asp Asp Trp Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

195 200 205

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe

210 215 220

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

225 230 235 240

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro

245 250 255

Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro

260 265 270

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

275 280 285

Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys

290 295 300

Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly

305 310 315 320

Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
325 330 335
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
340 345 350
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
355 360 365
Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn

370 375 380
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
385 390 395 400
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
405 410 415
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
420 425 430
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu

435 440 445
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
450 455 460
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465 470

<210> 75
<211> 1413
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"
<400> 75
gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60

agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120
cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180
gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240

ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tggtggtacg acgattggta cctggactac tggggacagg gcactctcgt gactgtgtcc 360

tccggtggtg gtggatcggg gggtggtggt tcgggcggag gaggatctgg aggaggaggg 420

tcggacattc aaatgactca gtccccgtcc tccctctccg cctccgtggg agatcgcgtc 480

acgatcacgt gcagggccag ccagagcatc tccagctacc tgaactggta ccagcagaag 540

ccagggaagg caccgaagct cctgatctac gccgctagct cgctgcagtc cggcgtccct 600

tcacggttct cgggatcggg ctcaggcacc gacttcaccc tgaccattag cagcctgcag 660

ccggaggact tcgcgacata ctactgtcag cagtcatact ccacccctct gaccttcggc 720

caagggacca aagtggagat caagaccact accccagcac cgaggccacc caccccggct 780

cctaccatcg cctcccagcc tctgtccctg cgtccggagg catgtagacc cgcagctggt 840

ggggccgtgc atacccgggg tcttgacttc gcctgcgata tctacatttg ggcccctctg 900

gctggtactt gcggggtcct gctgctttca ctcgtgatca ctctttactg taagcgcggt 960

cggaagaagc tgctgtacat ctttaagcaa cccttcatga ggcctgtgca gactactcaa 1020

gaggaggacg gctgttcatg ccggttccca gaggaggagg aaggcggctg cgaactgcgc 1080

gtgaaattca gccgcagcgc agatgctcca gcctaccagc aggggcagaa ccagctctac 1140

aacgaactca atcttggtcg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1200

gacccagaaa tgggcgggaa gccgcgcaga aagaatcccc aagagggcct gtacaacgag 1260

ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1320

agaggcaaag gccacgacgg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1380

gacgctcttc acatgcaggc cctgccgcct cgg 1413

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 76

Arg Glu Trp Trp Gly Glu Ser Trp Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 77

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 77

Ala Arg Arg Glu Trp Trp Gly Glu Ser Trp Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 78

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 78

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

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

20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

85 90 95

Ala Arg Arg Glu Trp Trp Gly Glu Ser Trp Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 79

gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60

agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120

cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180

gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240

ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tggtggggag aaagctggct gttcgactac tggggacagg gcactctcgt gactgtgtcc 360

tcc 363

<210> 80

<211> 248

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 80

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Glu Trp Trp Gly Glu Ser Trp Leu Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

195 200 205

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe

210 215 220

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

225 230 235 240

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 81

<211> 744

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 81

gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60

agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120

cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180

gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240

ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tggtggggag aaagctggct gttcgactac tggggacagg gcactctcgt gactgtgtcc 360

tccggtggtg gtggatcggg gggtggtggt tcgggcggag gaggatctgg aggaggaggg 420

tcggacattc aaatgactca gtccccgtcc tccctctccg cctccgtggg agatcgcgtc 480

acgatcacgt gcagggccag ccagagcatc tccagctacc tgaactggta ccagcagaag 540

ccagggaagg caccgaagct cctgatctac gccgctagct cgctgcagtc cggcgtccct 600

tcacggttct cgggatcggg ctcaggcacc gacttcaccc tgaccattag cagcctgcag 660

ccggaggact tcgcgacata ctactgtcag cagtcatact ccacccctct gaccttcggc 720

caagggacca aagtggagat caag 744

<210> 82

<211> 471

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 82

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

85 90 95

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

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

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly
225 230 235 240
Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
245 250 255
Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
260 265 270
Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
275 280 285

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

Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
340 345 350

Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
355 360 365
Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
370 375 380
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
385 390 395 400
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
405 410 415

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
420 425 430
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
435 440 445
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
450 455 460
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465 470

<210> 83
<211> 1413
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 83
gaagtgcagt tgctggagtc aggcggagga ctggtgcagc ccggaggatc gcttcgcttg 60
agctgcgcag cctcaggctt taccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt cagacaggct 120
cccgggaagg gactggaatg ggtgtccgcc attagcggtt ccggcggaag cacttactat 180
gccgactctg tgaagggccg cttcactatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtat 240
ctccaaatga attccctgag ggccgaagat accgcggtgt actactgcgc tagacgggag 300

tggtggggag aaagctggct gttcgactac tggggacagg gcactctcgt gactgtgtcc 360

tccggtggtg gtggatcggg gggtggtggt tcgggcggag gaggatctgg aggaggaggg 420
tcggacattc aaatgactca gtccccgtcc tccctctccg cctccgtggg agatcgcgtc 480
acgatcacgt gcagggccag ccagagcatc tccagctacc tgaactggta ccagcagaag 540
ccagggaagg caccgaagct cctgatctac gccgctagct cgctgcagtc cggcgtccct 600
tcacggttct cgggatcggg ctcaggcacc gacttcaccc tgaccattag cagcctgcag 660
ccggaggact tcgcgacata ctactgtcag cagtcatact ccacccctct gaccttcggc 720
caagggacca aagtggagat caagaccact accccagcac cgaggccacc caccccggct 780

cctaccatcg cctcccagcc tctgtccctg cgtccggagg catgtagacc cgcagctggt 840
ggggccgtgc atacccgggg tcttgacttc gcctgcgata tctacatttg ggcccctctg 900
gctggtactt gcggggtcct gctgctttca ctcgtgatca ctctttactg taagcgcggt 960
cggaagaagc tgctgtacat ctttaagcaa cccttcatga ggcctgtgca gactactcaa 1020
gaggaggacg gctgttcatg ccggttccca gaggaggagg aaggcggctg cgaactgcgc 1080
gtgaaattca gccgcagcgc agatgctcca gcctaccagc aggggcagaa ccagctctac 1140
aacgaactca atcttggtcg gagagaggag tacgacgtgc tggacaagcg gagaggacgg 1200

gacccagaaa tgggcgggaa gccgcgcaga aagaatcccc aagagggcct gtacaacgag 1260
ctccaaaagg ataagatggc agaagcctat agcgagattg gtatgaaagg ggaacgcaga 1320
agaggcaaag gccacgacgg actgtaccag ggactcagca ccgccaccaa ggacacctat 1380
gacgctcttc acatgcaggc cctgccgcct cgg 1413

<210> 84
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /replace=" "

<220><221> VARIANT
<222> (5)..(5)

<223> /replace=" "

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Tyr" or "Asp"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Asp" or "Val"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Asp"

<220><221> VARIANT

<222> (11)..(11)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (12)..(12)

<223> /replace="Leu"

<220><221> SITE

<222> (1)..(14)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 84

Arg Glu Trp Val Pro Trp Gly Glu Ser Trp Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 85

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace=" "

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace=" "

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Tyr" or "Asp"

<220><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> /replace="Asp" or "Val"

<220><221> VARIANT

<222> (11)..(11)

<223> /replace="Asp"

<220><221> VARIANT

<222> (13)..(13)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (14)..(14)

<223> /replace="Leu"

<220><221> SITE

<222> (1)..(16)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 85

Ala Arg Arg Glu Trp Val Pro Trp Gly Glu Ser Trp Leu Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 86

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 86

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 87

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 87

Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 88

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 88

Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

1 5 10

<210> 89

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 89
Ser Tyr Asp Gly Ser Asn
1 5
<210> 90
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 90
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5
<210> 91
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"
<400> 91
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5
<210> 92
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 92

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

<210> 93

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 93

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 94

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 94

caagtgcagc tgcaggaatc cggtggcgga gtcgtgcagc ctggaaggag cctgagactc 60

tcatgcgccg cgtcagggtt caccttttcc tcctacggga tgcattgggt cagacaggcc 120

cccggaaagg gactcgaatg ggtggctgtg atcagctacg acggctccaa caagtactac 180

gccgactccg tgaaaggccg gttcactatc tcccgggaca actccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga attcactgcg cgcggaggat accgctgtgt actactgcgg tggctccggt 300

tacgccctgc acgatgacta ttacggcctt gacgtctggg gccagggaac cctcgtgact 360

gtgtccagc 369

<210> 95

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 95

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 96

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221>
source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 96

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 97

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 97

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Tyr Val

1 5 10

<210> 98

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 98

Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 99

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 99

Asp Val Ser

1

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 100

Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Tyr

1 5

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 101

Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr

1 5

<210> 102

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 102

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 Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser

85 90 95

Ser Thr Leu Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100 105 110

<210> 103

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 103

cagagcgcac tgactcagcc ggcatccgtg tccggtagcc ccggacagtc gattaccatc 60

tcctgtaccg gcacctcctc cgacgtggga gggtacaact acgtgtcgtg gtaccagcag 120

cacccaggaa aggcccctaa gttgatgatc tacgatgtgt caaaccgccc gtctggagtc 180

tccaaccggt tctccggctc caagtccggc aacaccgcca gcctgaccat tagcgggctg 240

caagccgagg atgaggccga ctactactgc tcgagctaca catcctcgag caccctctac 300

gtgttcggct cggggactaa ggtcaccgtg ctg 333

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 104

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

1 5 10 15

<210> 105

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 105

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln
130 135 140

Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys
145 150 155 160

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser
180 185 190

Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
195 200 205

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala
210 215 220

Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Tyr Val Phe
225 230 235 240
Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
245

<210> 106
<211> 747
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 106
caagtgcagc tgcaggaatc cggtggcgga gtcgtgcagc ctggaaggag cctgagactc 60

tcatgcgccg cgtcagggtt cacctttcc tcctacggga tgcattgggt cagacaggcc 120
cccggaaagg gactcgaatg ggtggctgtg atcagctacg acggctccaa caagtactac 180
gccgactccg tgaaaggccg gttcactatc tcccgggaca actccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga attcactgcg cgcggaggat accgctgtgt actactgcgg tggctccggt 300
tacgccctgc acgatgacta ttacggcctt gacgtctggg gccagggaac cctcgtgact 360
gtgtccagcg gtggaggagg ttcgggcgga ggaggatcag gaggggtgg atcgcagagc 420
gcactgactc agccggcatc cgtgtccggt agccccggac agtcgattac catctcctgt 480

accggcacct cctccgacgt gggagggtac aactacgtgt cgtggtacca gcagcaccca 540
ggaaaggccc ctaagttgat gatctacgat gtgtcaaacc gcccgtctgg agtctccaac 600
cggttctccg gctccaagtc cggcaacacc gccagcctga ccattagcgg gctgcaagcc 660
gaggatgagg ccgactacta ctgctcgagc tacacatcct cgagcaccct ctacgtgttc 720
ggctcgggga ctaaggtcac cgtgctg 747
<210> 107
<211> 472
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 107

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln
130 135 140

Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys
145 150 155 160

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser
180 185 190

Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
195 200 205

Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala
210 215 220

Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Tyr Val Phe
225 230 235 240

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

245 250 255

Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
260 265 270
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
275 280 285
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
290 295 300
Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
305 310 315 320

Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
325 330 335
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
340 345 350
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
355 360 365
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
370 375 380

Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
385 390 395 400
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
405 410 415
Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
420 425 430
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
435 440 445

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
450 455 460
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465 470
<210> 108
<211> 1416

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 108

caagtgcagc tgcaggaatc cggtggcgga gtcgtgcagc ctggaaggag cctgagactc 60

tcatgcgccg cgtcagggtt caccttttcc tcctacggga tgcattgggt cagacaggcc 120

cccggaaagg gactcgaatg ggtggctgtg atcagctacg acggctccaa caagtactac 180

gccgactccg tgaaaggccg gttcactatc tcccgggaca actccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga attcactgcg cgcggaggat accgctgtgt actactgcgg tggctccggt 300

tacgccctgc acgatgacta ttacggcctt gacgtctggg gccagggaac cctcgtgact 360

gtgtccagcg gtggaggagg ttcgggcgga ggaggatcag gaggggggtgg atcgcagagc 420

gcactgactc agccggcatc cgtgtccggt agccccggac agtcgattac catctcctgt 480

accggcacct cctccgacgt gggagggtac aactacgtgt cgtggtacca gcagcaccca 540

ggaaaggccc ctaagttgat gatctacgat gtgtcaaacc gcccgtctgg agtctccaac 600

cggttctccg gctccaagtc cggcaacacc gccagcctga ccattagcgg gctgcaagcc 660

gaggatgagg ccgactacta ctgctcgagc tacacatcct cgagcaccct ctacgtgttc 720

ggctcgggga ctaaggtcac cgtgctgacc actaccccag caccgaggcc acccaccccg 780

gctcctacca tcgcctccca gcctctgtcc ctgcgtccgg aggcatgtag acccgcagct 840

ggtggggccg tgcatacccg gggtcttgac ttcgcctgcg atatctacat ttgggccccct 900

ctggctggta cttgcggggt cctgctgctt tcactcgtga tcactcttta ctgtaagcgc 960

ggtcggaaga agctgctgta catctttaag caacccttca tgaggcctgt gcagactact 1020

caagaggagg acggctgttc atgccggttc ccagaggagg aggaaggcgg ctgcgaactg 1080

cgcgtgaaat tcagccgcag cgcagatgct ccagcctacc agcaggggca gaaccagctc 1140

tacaacgaac tcaatcttgg tcggagagag gagtacgacg tgctggacaa gcggagagga 1200

cgggacccag aaatgggcgg gaagccgcgc agaaagaatc cccaagaggg cctgtacaac 1260

gagctccaaa aggataagat ggcagaagcc tatagcgaga ttggtatgaa aggggaacgc 1320

agaagaggca aaggccacga cggactgtac cagggactca gcaccgccac caaggacacc 1380

tatgacgctc ttcacatgca ggccctgccg cctcgg 1416

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 109

Val Ile Ser Tyr Lys Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 110

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 110

Ser Tyr Lys Gly Ser Asn

1 5

<210> 111

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 111

Ile Ser Tyr Lys Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 112

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 112

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Lys Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 113

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223

> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 113

caagtgcagc ttgtcgaatc gggaggcgga gtggtgcagc ctggacgatc gctccggctc 60

tcatgtgccg cgagcggatt caccttctcg agctacggca tgcactgggt cagacaagcc 120

ccaggaaagg gcctggaatg ggtggctgtc atctcgtaca agggctcaaa caagtactac 180

gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgata actccaagaa taccctctat 240

ctgcaaatga acagcctgag ggccgaggat actgcagtgt actactgcgg gggttcaggc 300

tacgcgctgc acgacgacta ctacggattg gacgtctggg gccaaggaac tcttgtgacc 360

gtgtcctct 369

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 114

Glu Val Ser Asn Arg Leu Arg

1 5

<210> 115

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 115

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Ala Leu Tyr Val

1 5 10

<210> 116

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 116

Glu Val Ser

1

<210> 117

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 117

Tyr Thr Ser Ser Ser Ala Leu Tyr
1 5

<210> 118

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 118

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 Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Leu Arg Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

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

100 105 110

<210> 119
<211> 333
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"
<400> 119
cagagcgcgc tgactcagcc tgcctccgtg agcggttcgc cgggacagtc cattaccatt 60
tcgtgcaccg ggacctcctc cgacgtggga ggctacaact acgtgtcctg gtaccagcag 120
catcccggaa aggccccgaa gctgatgatc tacgaagtgt cgaacagact gcggggagtc 180
tccaaccgct tttccgggtc caagtccggc aacaccgcca gcctgaccat cagcgggctc 240
caggcagaag atgaggctga ctattactgc tcctcctaca cgtcaagctc cgccctctac 300

gtgttcgggt ccgggaccaa agtcactgtg ctg 333
<210> 120
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 120
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn

165 170 175

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser

225 230 235 240

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

245 250

<210> 121

<211> 762

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 121

caagtgcagc ttgtcgaatc gggaggcgga gtggtgcagc ctggacgatc gctccggctc 60

tcatgtgccg cgagcggatt caccttctcg agctacggca tgcactgggt cagacaagcc 120

ccaggaaagg gcctggaatg ggtggctgtc atctcgtaca agggctcaaa caagtactac 180
gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgata actccaagaa taccctctat 240
ctgcaaatga acagcctgag ggccgaggat actgcagtgt actactgcgg gggttcaggc 300
tacgcgctgc acgacgacta ctacggattg gacgtctggg gccaaggaac tcttgtgacc 360
gtgtcctctg gtggaggcgg atcagggggt ggcggatctg ggggtggtgg ttccgggggа 420
ggaggatcgc agagcgcgct gactcagcct gcctccgtga gcggttcgcc gggacagtcc 480
attaccattt cgtgcaccgg gacctcctcc gacgtgggag gctacaacta cgtgtcctgg 540

taccagcagc atcccggaaa ggccccgaag ctgatgatct acgaagtgtc gaacagactg 600
cggggagtct ccaaccgctt ttccgggtcc aagtccggca acaccgccag cctgaccatc 660
agcgggctcc aggcagaaga tgaggctgac tattactgct cctcctacac gtcaagctcc 720
gccctctacg tgttcgggtc cgggaccaaa gtcactgtgc tg 762

<210> 122
<211> 477
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 122

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

1 5 10 15

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn

165 170 175

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser

225 230 235 240

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

245 250 255

Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln

260 265 270

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

275 280 285

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln

325 330 335

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

385 390 395 400
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
405 410 415
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
420 425 430
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
435 440 445
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

450 455 460
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465 470 475
<210> 123
<211> 1431
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 123
caagtgcagc ttgtcgaatc gggaggcgga gtggtgcagc ctggacgatc gctccggctc 60
tcatgtgccg cgagcggatt caccttctcg agctacggca tgcactgggt cagacaagcc 120
ccaggaaagg gcctggaatg ggtggctgtc atctcgtaca agggctcaaa caagtactac 180

gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgata actccaagaa taccctctat 240
ctgcaaatga acagcctgag ggccgaggat actgcagtgt actactgcgg gggttcaggc 300
tacgcgctgc acgacgacta ctacggattg gacgtctggg gccaaggaac tcttgtgacc 360

gtgtcctctg gtggaggcgg atcaggggggt ggcggatctg ggggtggtgg ttccggggga 420

ggaggatcgc agagcgcgct gactcagcct gcctccgtga gcggttcgcc gggacagtcc 480

attaccattt cgtgcaccgg gacctcctcc gacgtgggag gctacaacta cgtgtcctgg 540

taccagcagc atcccggaaa ggccccgaag ctgatgatct acgaagtgtc gaacagactg 600

cggggagtct ccaaccgctt ttccgggtcc aagtccggca acaccgccag cctgaccatc 660

agcgggctcc aggcagaaga tgaggctgac tattactgct cctcctacac gtcaagctcc 720

gccctctacg tgttcgggtc cgggaccaaa gtcactgtgc tgaccactac cccagcaccg 780

aggccaccca ccccggctcc taccatcgcc tcccagcctc tgtccctgcg tccggaggca 840

tgtagacccg cagctggtgg ggccgtgcat acccggggtc ttgacttcgc ctgcgatatc 900

tacatttggg cccctctggc tggtacttgc ggggtcctgc tgctttcact cgtgatcact 960

ctttactgta agcgcggtcg gaagaagctg ctgtacatct ttaagcaacc cttcatgagg 1020

cctgtgcaga ctactcaaga ggaggacggc tgttcatgcc ggttcccaga ggaggaggaa 1080

ggcggctgcg aactgcgcgt gaaattcagc cgcagcgcag atgctccagc ctaccagcag 1140

gggcagaacc agctctacaa cgaactcaat cttggtcgga gagaggagta cgacgtgctg 1200

gacaagcgga gaggacggga cccagaaatg ggcgggaagc cgcgcagaaa gaatccccaa 1260

gagggcctgt acaacgagct ccaaaaggat aagatggcag aagcctatag cgagattggt 1320

atgaaagggg aacgcagaag aggcaaaggc cacgacggac tgtaccaggg actcagcacc 1380

gccaccaagg acacctatga cgctcttcac atgcaggccc tgccgcctcg g 1431

<210> 124

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 124

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 Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

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

<210> 125
<211> 333
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"
<400> 125
cagagcgcgc tgactcagcc tgcctccgtg agcggttcgc cgggacagtc cattaccatt 60
tcgtgcaccg ggacctcctc cgacgtggga ggctacaact acgtgtcctg gtaccagcag 120
catcccggaa aggccccgaa gctgatgatc tacgaagtgt cgaacagact gcggggagtc 180
tccaaccgct tttccgggtc caagtccggc aacaccgcca gcctgaccat cagcgggctc 240
caggcagaag atgaggctga ctattactgc tcctcctaca cgtcaagctc caccctctac 300

gtgttcgggt ccgggaccaa agtcactgtg ctg 333
<210> 126
<211> 254
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 126
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Lys Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn

165 170 175

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser

225 230 235 240

Thr Leu Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

245 250

<210> 127

<211> 762

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 127

caagtgcagc ttgtcgaatc gggaggcgga gtggtgcagc ctggacgatc gctccggctc 60

tcatgtgccg cgagcggatt caccttctcg agctacggca tgcactgggt cagacaagcc 120

ccaggaaagg gcctggaatg ggtggctgtc atctcgtaca agggctcaaa caagtactac 180

gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgata actccaagaa taccctctat 240

ctgcaaatga acagcctgag ggccgaggat actgcagtgt actactgcgg gggttcaggc 300

tacgcgctgc acgacgacta ctacggattg gacgtctggg gccaaggaac tcttgtgacc 360

gtgtcctctg gtggaggcgg atcagggggt ggcggatctg ggggtggtgg ttccggggga 420

ggaggatcgc agagcgcgct gactcagcct gcctccgtga gcggttcgcc gggacagtcc 480

attaccattt cgtgcaccgg gacctcctcc gacgtgggag gctacaacta cgtgtcctgg 540

taccagcagc atcccggaaa ggccccgaag ctgatgatct acgaagtgtc gaacagactg 600

cggggagtct ccaaccgctt ttccgggtcc aagtccggca acaccgccag cctgaccatc 660

agcgggctcc aggcagaaga tgaggctgac tattactgct cctcctacac gtcaagctcc 720

accctctacg tgttcgggtc cgggaccaaa gtcactgtgc tg 762

<210> 128

<211> 477

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 128

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Lys Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Leu His Asp Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

100 105 110

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

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn

165 170 175

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser

225 230 235 240

Thr Leu Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Thr Thr

245 250 255

Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln

260 265 270

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
275 280 285
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
290 295 300
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
305 310 315 320
Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln

325 330 335
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
340 345 350
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
355 360 365
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
370 375 380
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

385 390 395 400
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
405 410 415
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
420 425 430
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
435 440 445
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

450 455 460
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465 470 475
<210> 129
<211> 1431
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 129

caagtgcagc ttgtcgaatc gggaggcgga gtggtgcagc ctggacgatc gctccggctc 60

tcatgtgccg cgagcggatt caccttctcg agctacggca tgcactgggt cagacaagcc 120

ccaggaaagg gcctggaatg ggtggctgtc atctcgtaca agggctcaaa caagtactac 180

gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgcgata actccaagaa taccctctat 240

ctgcaaatga acagcctgag ggccgaggat actgcagtgt actactgcgg gggttcaggc 300

tacgcgctgc acgacgacta ctacggattg gacgtctggg gccaaggaac tcttgtgacc 360

gtgtcctctg gtggaggcgg atcagggggt ggcggatctg ggggtggtgg ttccgggggа 420

ggaggatcgc agagcgcgct gactcagcct gcctccgtga gcggttcgcc gggacagtcc 480

attaccattt cgtgcaccgg gacctcctcc gacgtgggag gctacaacta cgtgtcctgg 540

taccagcagc atcccggaaa ggccccgaag ctgatgatct acgaagtgtc gaacagactg 600

cggggagtct ccaaccgctt ttccgggtcc aagtccggca acaccgccag cctgaccatc 660

agcgggctcc aggcagaaga tgaggctgac tattactgct cctcctacac gtcaagctcc 720

accctctacg tgttcgggtc cgggaccaaa gtcactgtgc tgaccactac cccagcaccg 780

aggccaccca ccccggctcc taccatcgcc tcccagcctc tgtccctgcg tccggaggca 840

tgtagacccg cagctggtgg ggccgtgcat acccggggtc ttgacttcgc ctgcgatatc 900

tacatttggg cccctctggc tggtacttgc ggggtcctgc tgctttcact cgtgatcact 960

ctttactgta agcgcggtcg gaagaagctg ctgtacatct ttaagcaacc cttcatgagg 1020

cctgtgcaga ctactcaaga ggaggacggc tgttcatgcc ggttcccaga ggaggaggaa 1080

ggcggctgcg aactgcgcgt gaaattcagc cgcagcgcag atgctccagc ctaccagcag 1140

gggcagaacc agctctacaa cgaactcaat cttggtcgga gagaggagta cgacgtgctg 1200

gacaagcgga gaggacggga cccagaaatg ggcgggaagc cgcgcagaaa gaatccccaa 1260

gagggcctgt acaacgagct ccaaaaggat aagatggcag aagcctatag cgagattggt 1320

atgaaagggg aacgcagaag aggcaaaggc cacgacggac tgtaccaggg actcagcacc 1380

gccaccaagg acacctatga cgctcttcac atgcaggccc tgccgcctcg g 1431

<210> 130

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /replace="Lys"
<220><221> SITE
<222> (1)..(17)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"
<400> 130
Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 131
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Glu"
<220><221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /replace="Leu"
<220><221> VARIANT
<222> (7)..(7)
<223> /replace="Arg"
<220><221> SITE
<222> (1)..(7)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 131

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 132

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Ala"

<220><221> SITE

<222> (1)..(11)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 132

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Tyr Val

1 5 10

<210> 133

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Lys"

<220><221> SITE

<222> (1)..(6)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 133

Ser Tyr Asp Gly Ser Asn

1 5

<210> 134

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Glu"

<220><221> SITE

<222> (1)..(3)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 134

Asp Val Ser

1

<210> 135

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Ala"

<220><221> SITE

<222> (1)..(8)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 135

Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Tyr
1 5

<210> 136

<211> 8

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Lys"

<220><221> SITE

<222> (1)..(8)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 136

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 137

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 137

Gly Phe Trp Met Ser

1 5

<210> 138

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 138

Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 139

Ala Leu Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5

<210> 140

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 140

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Phe

1 5

<210> 141

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 141

Lys Gln Asp Gly Ser Glu

1 5

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 142

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Phe Trp

1 5

<210> 143

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 143

Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 144

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 144

Ala Arg Ala Leu Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 145

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 145

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

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

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Leu Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 146

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 146

gaagtgcaac tggtggagag cggtggaggg cttgtccagc ccggaggatc gctgcggctg 60

tcctgtgctg cgtccgggtt caccttctcc ggcttctgga tgtcctgggt cagacaggca 120

ccgggaaagg gcctcgaatg ggtggccaac atcaagcagg atggctccga gaagtactac 180

gtcgactccg tgagaggccg cttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa ctcgctgtac 240

ctccaaatga atagcctcag ggcggaagat actgctgtgt attactgcgc acgcgccctt 300

gactactacg gcatggacgt ctggggccaa gggaccactg tgaccgtgtc tagc 354

<210> 147

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 147

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu

1 5 10 15

Asp

<210> 148

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 148

Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser

1 5

<210> 149

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 149

Thr Gln Arg Leu Glu Phe Pro Ser Ile Thr

1 5 10

<210> 150

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 150

Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 151

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 151

Thr Leu Ser

1

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 152

Arg Leu Glu Phe Pro Ser Ile

1 5

<210> 153

<211> 12

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 153

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 154

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 154

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ile Lys

<210> 155

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 155

gatatcgtga tgacccagac tcccctgtcc ctgcctgtga ctcccggaga accagcctcc 60

atttcctgcc ggtcctccca gtccctgctg gacagcgacg acggcaacac ttacctggac 120

tggtacttgc agaagccggg ccaatcgcct cgcctgctga tctataccct gtcataccgg 180

gcctcaggag tgcctgaccg cttctcggga tcagggagcg ggaccgattt caccctgaaa 240

atttcccgag tggaagccga ggacgtcgga ctgtactact gcacccagcg cctcgaattc 300

ccgtcgatta cgtttggaca gggtacccgg cttgagatca ag 342

<210> 156

<211> 252

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 156

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

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

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Leu Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln
130 135 140

Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser
145 150 155 160

Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220

Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Thr Gln Arg Leu Glu Phe Pro Ser
225 230 235 240

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
245 250

<210> 157

<211

> 756

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 157

gaagtgcaac tggtggagag cggtggaggg cttgtccagc ccggaggatc gctgcggctg 60

tcctgtgctg cgtccgggtt caccttctcc ggcttctgga tgtcctgggt cagacaggca 120

ccgggaaagg gcctcgaatg ggtggccaac atcaagcagg atggctccga gaagtactac 180

gtcgactccg tgagaggccg cttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa ctcgctgtac 240

ctccaaatga atagcctcag ggcggaagat actgctgtgt attactgcgc acgcgccctt 300

gactactacg gcatggacgt ctggggccaa gggaccactg tgaccgtgtc tagcggaggc 360

ggaggttcag ggggcggtgg atcaggcgga ggaggatcgg ggggtggtgg atcggatatc 420

gtgatgaccc agactcccct gtccctgcct gtgactcccg gagaaccagc ctccatttcc 480

tgccggtcct cccagtccct gctggacagc gacgacggca acacttacct ggactggtac 540

ttgcagaagc cgggccaatc gcctcgcctg ctgatctata ccctgtcata ccgggcctca 600

ggagtgcctg accgcttctc gggatcaggg agcgggaccg atttcaccct gaaaatttcc 660

cgagtggaag ccgaggacgt cggactgtac tactgcaccc agcgcctcga attcccgtcg 720

attacgtttg gacagggtac ccggcttgag atcaag 756

<210> 158

<211> 475

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 158

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

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

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala Leu Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln
130 135 140

Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser
145 150 155 160

Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220

Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Thr Gln Arg Leu Glu Phe Pro Ser
225 230 235 240

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro
245 250 255

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
260 265 270

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
275 280 285

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
290 295 300

Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
305 310 315 320

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
325 330 335

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
340 345 350

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
355 360 365

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
370 375 380

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
385 390 395 400

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
405 410 415

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
420 425 430

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
435 440 445

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
450 455 460

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465 470 475

<210> 159

<211> 1425

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 159

gaagtgcaac tggtggagag cggtggaggg cttgtccagc ccggaggatc gctgcggctg 60

tcctgtgctg cgtccgggtt caccttctcc ggcttctgga tgtcctgggt cagacaggca 120

ccgggaaagg gcctcgaatg ggtggccaac atcaagcagg atggctccga gaagtactac 180

gtcgactccg tgagaggccg cttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa ctcgctgtac 240

ctccaaatga atagcctcag ggcggaagat actgctgtgt attactgcgc acgcgccctt 300

gactactacg gcatggacgt ctggggccaa gggaccactg tgaccgtgtc tagcggaggc 360

ggaggttcag ggggcggtgg atcaggcgga ggaggatcgg ggggtggtgg atcggatatc 420

gtgatgaccc agactcccct gtccctgcct gtgactcccg gagaaccagc ctccatttcc 480

tgccggtcct cccagtccct gctggacagc gacgacggca acacttacct ggactggtac 540

ttgcagaagc cgggccaatc gcctcgcctg ctgatctata ccctgtcata ccgggcctca 600

ggagtgcctg accgcttctc gggatcaggg agcgggaccg atttcaccct gaaaatttcc 660

cgagtggaag ccgaggacgt cggactgtac tactgcaccc agcgcctcga attcccgtcg 720

attacgtttg gacagggtac ccggcttgag atcaagacca ctaccccagc accgaggcca 780

cccaccccgg ctcctaccat cgcctcccag cctctgtccc tgcgtccgga ggcatgtaga 840

cccgcagctg gtggggccgt gcatacccgg ggtcttgact tcgcctgcga tatctacatt 900

tgggcccctc tggctggtac ttgcggggtc ctgctgcttt cactcgtgat cactctttac 960

tgtaagcgcg gtcggaagaa gctgctgtac atctttaagc aacccttcat gaggcctgtg 1020

cagactactc aagaggagga cggctgttca tgccggttcc cagaggagga ggaaggcggc 1080

tgcgaactgc gcgtgaaatt cagccgcagc gcagatgctc cagcctacca gcaggggcag 1140

aaccagctct acaacgaact caatcttggt cggagagagg agtacgacgt gctggacaag 1200

cggagaggac gggacccaga aatgggcggg aagccgcgca gaaagaatcc ccaagagggc 1260

ctgtacaacg agctccaaaa ggataagatg gcagaagcct atagcgagat tggtatgaaa 1320

ggggaacgca gaagaggcaa aggccacgac ggactgtacc agggactcag caccgccacc 1380

aaggacacct atgacgctct tcacatgcag gccctgccgc ctcgg 1425

<210> 160

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 160

Ser Phe Arg Met Asn

1 5

<210> 161

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 161

Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 162

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 162

Trp Leu Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5

<210> 163

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 163

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe

1 5

<210> 164

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 164

Ser Ser Ser Ser Ser Tyr

1 5

<210> 165

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 165

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Arg

1 5

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 166

Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile

1 5

<210> 167

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 167

Ala Arg Trp Leu Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 168

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 168

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 Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Leu Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 169

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 169

gaagtgcaac tggtggagag cggtggaggg cttgtcaagc ccggaggatc gctgcggctg 60

tcctgtgctg cgtccgggtt caccttctcc tcgttccgca tgaactgggt cagacaggca 120

ccgggaaagg gcctcgaatg ggtgtcctca atctcatcgt cctcgtccta catctactac 180

gccgactccg tgaaaggccg cttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa ctcgctgtac 240

ctccaaatga atagcctcag ggcggaagat actgctgtgt attactgcgc acgctggctt 300

tcctactacg gcatggacgt ctggggccaa gggaccactg tgaccgtgtc tagc 354

<210> 170

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 170

Thr Leu Ser Phe Arg Ala Ser
1 5

<210> 171

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 171

Met Gln Arg Ile Gly Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 172

Arg Ile Gly Phe Pro Ile

1 5

<210> 173

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 173

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Arg Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln

85 90 95

Arg Ile Gly Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 174

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 174

gatatcgtga tgacccagac tcccctgtcc ctgcctgtga ctcccggaga accagcctcc 60

atttcctgcc ggtcctccca gtccctgctg gacagcgacg acggcaacac ttacctggac 120

tggtacttgc agaagccggg ccaatcgcct cagctgctga tctataccct gtcattccgg 180

gcctcaggag tgcctgaccg cttctcggga tcagggagcg ggaccgattt caccctgaaa 240

attaggcgag tggaagccga ggacgtcgga gtgtactact gcatgcagcg catcggcttc 300

ccgattacgt ttggacaggg tacccggctt gagatcaag 339

<210> 175

<211> 251

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 175

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 Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Leu Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Asp Gly Asn Thr Tyr

165 170 175

Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile

180 185 190

Tyr Thr Leu Ser Phe Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

195 200 205

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Arg Arg Val Glu Ala

210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Arg Ile Gly Phe Pro Ile

225 230 235 240

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

245 250

<210> 176

<211> 753

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 176

gaagtgcaac tggtggagag cggtggaggg cttgtcaagc ccggaggatc gctgcggctg 60

tcctgtgctg cgtccgggtt caccttctcc tcgttccgca tgaactgggt cagacaggca 120

ccgggaaagg gcctcgaatg ggtgtcctca atctcatcgt cctcgtccta catctactac 180

gccgactccg tgaaaggccg cttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa ctcgctgtac 240

ctccaaatga atagcctcag ggcggaagat actgctgtgt attactgcgc acgctggctt 300

tcctactacg gcatggacgt ctggggccaa gggaccactg tgaccgtgtc tagcggaggc 360

ggaggttcag ggggcggtgg atcaggcgga ggaggatcgg ggggtggtgg atcggatatc 420

gtgatgaccc agactcccct gtccctgcct gtgactcccg gagaaccagc ctccatttcc 480

tgccggtcct cccagtccct gctggacagc gacgacggca acacttacct ggactggtac 540

ttgcagaagc cgggccaatc gcctcagctg ctgatctata ccctgtcatt ccgggcctca 600

ggagtgcctg accgcttctc gggatcaggg agcgggaccg atttcaccct gaaaattagg 660

cgagtggaag ccgaggacgt cggagtgtac tactgcatgc agcgcatcgg cttcccgatt 720

acgtttggac agggtacccg gcttgagatc aag 753

<210> 177

<211> 474

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 177

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 Ser Phe

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

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

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

Tyr Thr Leu Ser Phe Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        195                 200                 205
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Arg Arg Val Glu Ala
    210                 215                 220
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Arg Ile Gly Phe Pro Ile
225                 230                 235                 240
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala
                245                 250                 255

Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
            260                 265                 270
```

Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
275 280 285
Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
290 295 300
Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
305 310 315 320

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
325 330 335
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
340 345 350
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
355 360 365
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
370 375 380

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
385 390 395 400
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
405 410 415
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
420 425 430
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
435 440 445

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
450 455 460
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465 470
<210> 178
<211> 1422
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 178

gaagtgcaac tggtggagag cggtggaggg cttgtcaagc ccggaggatc gctgcggctg 60

tcctgtgctg cgtccgggtt caccttctcc tcgttccgca tgaactgggt cagacaggca 120

ccgggaaagg gcctcgaatg ggtgtcctca atctcatcgt cctcgtccta catctactac 180

gccgactccg tgaaaggccg cttcaccatc tcccgggaca acgccaagaa ctcgctgtac 240

ctccaaatga atagcctcag ggcggaagat actgctgtgt attactgcgc acgctggctt 300

tcctactacg gcatggacgt ctggggccaa gggaccactg tgaccgtgtc tagcggaggc 360

ggaggttcag ggggcggtgg atcaggcgga ggaggatcgg ggggtggtgg atcggatatc 420

gtgatgaccc agactcccct gtccctgcct gtgactcccg gagaaccagc ctccatttcc 480

tgccggtcct cccagtccct gctggacagc gacgacggca acacttacct ggactggtac 540

ttgcagaagc cgggccaatc gcctcagctg ctgatctata ccctgtcatt ccgggcctca 600

ggagtgcctg accgcttctc gggatcaggg agcgggaccg atttcaccct gaaaattagg 660

cgagtggaag ccgaggacgt cggagtgtac tactgcatgc agcgcatcgg cttcccgatt 720

acgtttggac agggtacccg gcttgagatc aagaccacta ccccagcacc gaggccaccc 780

accccggctc ctaccatcgc ctcccagcct ctgtccctgc gtccggaggc atgtagaccc 840

gcagctggtg gggccgtgca tacccggggt cttgacttcg cctgcgatat ctacatttgg 900

gcccctctgg ctggtacttg cggggtcctg ctgctttcac tcgtgatcac tctttactgt 960

aagcgcggtc ggaagaagct gctgtacatc tttaagcaac ccttcatgag gcctgtgcag 1020

actactcaag aggaggacgg ctgttcatgc cggttcccag aggaggagga aggcggctgc 1080

gaactgcgcg tgaaattcag ccgcagcgca gatgctccag cctaccagca ggggcagaac 1140

cagctctaca acgaactcaa tcttggtcgg agagaggagt acgacgtgct ggacaagcgg 1200

agaggacggg acccagaaat gggcgggaag ccgcgcagaa agaatcccca agagggcctg 1260

tacaacgagc tccaaaagga taagatggca gaagcctata gcgagattgg tatgaaaggg 1320

gaacgcagaa gaggcaaagg ccacgacgga ctgtaccagg gactcagcac cgccaccaag 1380

gacacctatg acgctcttca catgcaggcc ctgccgcctc gg 1422

<210> 179

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Ser"
<220><221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> /replace="Arg"
<220><221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /replace="Asn"
<220><221> SITE
<222> (1)..(5)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations
for variant positions"
<400> 179
Gly Phe Trp Met Ser
1 5
<210> 180
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Ser"
<220><221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> /replace="Ser"
<220><221> VARIANT
<222> (4)..(4)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Ile"

<220><221> VARIANT

<222> (12)..(12)

<223> /replace="Ala"

<220><221> VARIANT

<222> (16)..(16)

<223> /replace="Lys"

<220><221> SITE

<222> (1)..(17)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 180

Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Trp"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Ser"

<220><221> SITE

<222> (1)..(9)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 181

Ala Leu Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5

<210> 182

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Phe"

<220><221> SITE

<222> (1)..(7)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 182

Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser

1 5

<210> 183

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Met"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Ile"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Gly"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace=" "

<220><

221> SITE

<222> (1)..(10)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 183

Thr Gln Arg Leu Glu Phe Pro Ser Ile Thr

1 5 10

<210> 184

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /replace="Ser"
<220><221> SITE

<222> (1)..(7)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"
<400> 184
Gly Phe Thr Phe Ser Gly Phe
1 5
<210> 185
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Ser"
<220><221> VARIANT
<222> (2)..(2)
<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> /replace="Ser"
<220><221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> /replace="Ser"
<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> SITE

<222> (1)..(6)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 185

Lys Gln Asp Gly Ser Glu

1 5

<210> 186

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Ile"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Gly"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace=" "

<220><221> SITE

<222> (1)..(7)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 186

Arg Leu Glu Phe Pro Ser Ile

1 5

<210> 187
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (6)..(6)
<223> /replace="Ser"
<220><221> VARIANT
<222> (8)..(8)
<223> /replace="Arg"
<220><221> SITE
<222> (1)..(8)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"
<400> 187
Gly Phe Thr Phe Ser Gly Phe Trp

1 5

<210> 188
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (2)..(2)
<223> /replace="Ser"
<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Ile"

<220><221> SITE

<222> (1)..(8)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 188

Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223>

/replace="Trp"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Ser"

<220><221> SITE

<222> (1)..(11)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 189

Ala Arg Ala Leu Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 190

<211> 521

<212> DNA

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:
PGK Promoter sequence"

<400> 190

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120

gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180

gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240

cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300

ttccttggaa gggctgaatc cccgcctcgt ccttcgcagc ggcccccccgg gtgttcccat 360

cgccgcttct aggcccactg cgacgcttgc ctgcacttct tacacgctct gggtcccagc 420

cgcggcgacg caaagggcct tggtgcgggt ctcgtcggcg cagggacgcg tttgggtccc 480

gacggaacct tttccgcgtt ggggttgggg caccataagc t 521

<210> 191

<211> 221

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 191

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120

gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180

gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac g 221

<210> 192

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 192

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120

gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180

gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240

cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300

ttccttggaa gggctgaatc cccg 324

<210> 193

<211> 422

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 193

acccctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtgtg 120

gggcggaggg cgtggcgggg aagggccggc gacgagagcc gcgcgggacg actcgtcggc 180

gataaccggt gtcgggtagc gccagccgcg cgacggtaac gagggaccgc gacaggcaga 240

cgctcccatg atcactctgc acgccgaagg caaatagtgc aggccgtgcg gcgcttggcg 300

ttccttggaa gggctgaatc cccgcctcgt ccttcgcagc ggcccccccgg gtgttcccat 360

cgccgcttct aggcccactg cgacgcttgc ctgcacttct tacacgctct gggtcccagc 420

cg 422

<210> 194

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(3)

<223> /note="This region may or may not be present"

<400> 194

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> 195

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(3)

<223> /note="This region may or may not be present"

<400> 195

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> 196

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(3)

<223> /note="This region may or may not be present"

<400> 196

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> 197

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(3)

<223> /note="This region may or may not be present"

<400> 197

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> 198

<211> 118

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 198

accctctct ccagccacta agccagttgc tccctcggct gacggctgca cgcgaggcct 60

ccgaacgtct tacgccttgt ggcgcgcccg tccttgtccc gggtgtgatg gcggggtg 118

<210> 199

<400> 199

000

<210> 200

<400> 200

000

<210> 201

<400> 201

000

<210> 202

<211> 69

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 202

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
35 40 45

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
50 55 60

Ile Thr Leu Tyr Cys

65

<210> 203

<400> 203

000

<210> 204

<400> 204

000

<210> 205

<400> 205

000

<210> 206

<400> 206

000

<210> 207

<400> 207

000

<210> 208

<400> 208

000

<210> 209

<400> 209

000

<210> 210

<400> 210

000

<210> 211

<400> 211

000

<210> 212

<400> 212

000

<210> 213

<400> 213

000

<210>

214

<400> 214

000

<210> 215

<400> 215

000

<210> 216

<400> 216

000

<210> 217

<400> 217

000

<210> 218

<400> 218

000

<210> 219

<400> 219

000

<210> 220

<400> 220

000

<210> 221

<400> 221

000

<210> 222

<400> 222

000

<210> 223

<400> 223

000

<210> 224

<400> 224

000

<210> 225

<400> 225

000

<210> 226

<400> 226

000

<210> 227

<400> 227

000

<210> 228

<400> 228

000

<210> 229

<400> 229

000

<210> 230

<400> 230

000

<210> 231

<400> 231

000

<210> 232

<400> 232

000

<210> 233

<400> 233

000

<210> 234

<400> 234

000

<210> 235

<400> 235

000

<210> 236

<400> 236

000

<210> 237

<400> 237

000

<210> 238

<400> 238

000

<210> 239

<400> 239

000

<210> 240

<400> 240

000

<210> 241

<400> 241

000

<210> 242

<400> 242

000

<210> 243

<400> 243

000

<210> 244

<400> 244

000

<210> 245

<400> 245

000

<210> 246

<400> 246

000

<210> 247

<400> 247

000

<210> 248

<400

> 248

000

<210> 249

<400> 249

000

<210> 250

<400> 250

000

<210> 251

<400> 251

000

<210> 252

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 252

atggccctcc ctgtcaccgc tctgttgctg ccgcttgctc tgctgctcca cgcagcgcga 60

ccg 63

<210> 253

<211> 747

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221>
source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 253

caggtacaat tgcaggagtc tggaggcggt gtggtgcaac ccggtcgcag cttgcgcctg 60

agttgtgctg cgtctggatt tacattttca tcttacggaa tgcattgggt acgccaggca 120

ccggggaaag gccttgaatg ggtggctgta atttcatacg atggttccaa caaatactat 180

gctgactcag tcaagggtcg atttacaatt agtcgggaca actccaagaa cacccttttat 240

cttcaaatga attcccttag agcagaggat acggcggtct attactgtgg tggcagtggt 300

tatgcacttc atgatgatta ctatggcttg gatgtctggg ggcaagggac gcttgtaact 360

gtatcctctg gtggtggtgg tagtggtggg ggaggctccg gcggtggcgg ctctcaatct 420

gctctgactc aaccagcaag cgtatcaggg tcaccgggac agagtattac cataagttgc 480

acggggacct ctagcgatgt agggggggtat aattatgtat cttggtatca acaacacccc 540

gggaaagccc ctaaattgat gatctacgac gtgagcaatc gacctagtgg cgtatcaaat 600

cgcttctctg gtagcaagag tgggaatacg gcgtccctta ctattagcgg attgcaagca 660

gaagatgagg ccgattacta ctgcagctcc tatactagct cttctacatt gtacgtcttt 720

gggagcggaa caaaagtaac agtactc 747

<210> 254

<211> 207

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 254

acaacaacac ctgccccgag accgcctaca ccagccccga ctattgccag ccagcctctg 60

agcctcaggc ctgaggcctg taggcccgca gcgggcggcg cagttcatac acggggcttg 120

gatttcgctt gtgatattta tatttgggct cctttggcgg ggacatgtgg cgtgctgctt 180

ctgtcacttg ttattacact gtactgt 207

<210> 255

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 255

aaacgcgggc gaaaaaaatt gctgtatatt tttaagcagc catttatgag gcccgttcag 60

acgacgcagg aggaggacgg ttgctcttgc aggttcccag aagaggaaga agggggctgt 120

gaattg 126

<210> 256

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 256

cgggttaaat tttcaagatc cgcagacgct ccagcatacc aacagggaca aaaccaactc 60

tataacgagc tgaatcttgg aagaagggag gaatatgatg tgctggataa acggcgcggt 120

agagatccgg agatgggcgg aaaaccaagg cgaaaaaacc ctcaggaggg actctacaac 180

gaactgcaga aagacaaaat ggcggaggct tattccgaaa taggcatgaa gggcgagcgg 240

aggcgaggga aagggcacga cggactgtat caaggcctct caaccgcgac taaggatacg 300

tacgacgccc tgcacatgca ggccctgcct ccgaga 336

<210> 257

<211

> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 257

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
85 90 95
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110

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

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

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser
245 250 255
Thr Leu Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Thr Thr
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
275 280 285
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
305 310 315 320
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr

325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln

340 345 350

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser

355 360 365

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys

370 375 380

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln

385 390 395 400

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

405 410 415

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

420 425 430

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485 490

<210> 258

<211> 1479

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 258

atggccctcc ctgtcaccgc tctgttgctg ccgcttgctc tgctgctcca cgcagcgcga 60

ccgcaggtac aattgcagga gtctggaggc ggtgtggtgc aacccggtcg cagcttgcgc 120

ctgagttgtg ctgcgtctgg atttacattt tcatcttacg gaatgcattg ggtacgccag 180

gcaccgggga aaggccttga atgggtggct gtaatttcat acgatggttc caacaaatac 240

tatgctgact cagtcaaggg tcgatttaca attagtcggg acaactccaa gaacaccctt 300

tatcttcaaa tgaattccct tagagcagag gatacggcgg tctattactg tggtggcagt 360

ggttatgcac ttcatgatga ttactatggc ttggatgtct gggggcaagg gacgcttgta 420

actgtatcct ctggtggtgg tggtagtggt gggggaggct ccggcggtgg cggctctcaa 480

tctgctctga ctcaaccagc aagcgtatca gggtcaccgg gacagagtat taccataagt 540

tgcacgggga cctctagcga tgtaggggggg tataattatg tatcttggta tcaacaacac 600

cccgggaaag cccctaaatt gatgatctac gacgtgagca atcgacctag tggcgtatca 660

aatcgcttct ctggtagcaa gagtgggaat acggcgtccc ttactattag cggattgcaa 720

gcagaagatg aggccgatta ctactgcagc tcctatacta gctcttctac attgtacgtc 780

tttgggagcg gaacaaaagt aacagtactc acaacaacac ctgccccgag accgcctaca 840

ccagccccga ctattgccag ccagcctctg agcctcaggc ctgaggcctg taggcccgca 900

gcgggcggcg cagttcatac acggggcttg gatttcgctt gtgatattta tatttgggct 960

cctttggcgg ggacatgtgg cgtgctgctt ctgtcacttg ttattacact gtactgtaaa 1020

cgcgggcgaa aaaaattgct gtatattttt aagcagccat ttatgaggcc cgttcagacg 1080

acgcaggagg aggacggttg ctcttgcagg ttcccagaag aggaagaagg gggctgtgaa 1140

ttgcgggtta aattttcaag atccgcagac gctccagcat accaacaggg acaaaaccaa 1200

ctctataacg agctgaatct tggaagaagg gaggaatatg atgtgctgga taaacggcgc 1260

ggtagagatc cggagatggg cggaaaacca aggcgaaaaa accctcagga gggactctac 1320

aacgaactgc agaaagacaa aatggcggag gcttattccg aaataggcat gaagggcgag 1380

cggaggcgag ggaaagggca cgacggactg tatcaaggcc tctcaaccgc gactaaggat 1440

acgtacgacg ccctgcacat gcaggccctg cctccgaga 1479

<210> 259

<211> 1416

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 259

caggtacaat tgcaggagtc tggaggcggt gtggtgcaac ccggtcgcag cttgcgcctg 60

agttgtgctg cgtctggatt tacattttca tcttacggaa tgcattgggt acgccaggca 120

ccggggaaag gccttgaatg ggtggctgta atttcatacg atggttccaa caaatactat 180

gctgactcag tcaagggtcg atttacaatt agtcgggaca actccaagaa cacccttat 240

cttcaaatga attcccttag agcagaggat acggcggtct attactgtgg tggcagtggt 300

tatgcacttc atgatgatta ctatggcttg gatgtctggg ggcaagggac gcttgtaact 360

gtatcctctg gtggtggtgg tagtggtggg ggaggctccg gcggtggcgg ctctcaatct 420

gctctgactc aaccagcaag cgtatcaggg tcaccgggac agagtattac cataagttgc 480

acggggacct ctagcgatgt agggggggtat aattatgtat cttggtatca acaacacccc 540

gggaaagccc ctaaattgat gatctacgac gtgagcaatc gacctagtgg cgtatcaaat 600

cgcttctctg gtagcaagag tgggaatacg gcgtccctta ctattagcgg attgcaagca 660

gaagatgagg ccgattacta ctgcagctcc tatactagct cttctacatt gtacgtcttt 720

gggagcggaa caaaagtaac agtactcaca acaacacctg ccccgagacc gcctacacca 780

gccccgacta ttgccagcca gcctctgagc ctcaggcctg aggcctgtag gcccgcagcg 840

ggcggcgcag ttcatacacg gggcttggat ttcgcttgtg atatttatat ttgggctcct 900

ttggcgggga catgtggcgt gctgcttctg tcacttgtta ttacactgta ctgtaaacgc 960

gggcgaaaaa aattgctgta tatttttaag cagccattta tgaggcccgt tcagacgacg 1020

caggaggagg acggttgctc ttgcaggttc ccagaagagg aagaaggggg ctgtgaattg 1080

cgggttaaat tttcaagatc cgcagacgct ccagcatacc aacagggaca aaaccaactc 1140

tataacgagc tgaatcttgg aagaagggag gaatatgatg tgctggataa acggcgcggt 1200

agagatccgg agatgggcgg aaaaccaagg cgaaaaaacc ctcaggaggg actctacaac 1260

gaactgcaga aagacaaaat ggcggaggct tattccgaaa taggcatgaa gggcgagcgg 1320

aggcgaggga aagggcacga cggactgtat caaggcctct caaccgcgac taaggatacg 1380

tacgacgccc tgcacatgca ggccctgcct ccgaga 1416

<210> 260

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 260

caggtacaat tgcaggagtc tggaggcggt gtggtgcaac ccggtcgcag cttgcgcctg 60

agttgtgctg cgtctggatt tacattttca tcttacggaa tgcattgggt acgccaggca 120

ccggggaaag gccttgaatg ggtggctgta atttcatacg atggttccaa caaatactat 180

gctgactcag tcaagggtcg atttacaatt agtcgggaca actccaagaa cacccttTat 240

cttcaaatga attcccttag agcagaggat acggcggtct attactgtgg tggcagtggt 300

tatgcacttc atgatgatta ctatggcttg gatgtctggg ggcaagggac gcttgtaact 360

gtatcctct 369

<210> 261

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 261

caatctgctc tgactcaacc agcaagcgta tcagggtcac cgggacagag tattaccata 60

agttgcacgg ggacctctag cgatgtaggg gggtataatt atgtatcttg gtatcaacaa 120

caccccggga aagcccctaa attgatgatc tacgacgtga gcaatcgacc tagtggcgta 180

tcaaatcgct tctctggtag caagagtggg aatacggcgt cccttactat tagcggattg 240

caagcagaag atgaggccga ttactactgc agctcctata ctagctcttc tacattgtac 300

gtctttggga gcggaacaaa agtaacagta ctc 333

<210> 262

<400> 262

000

<210> 263

<400> 263

000

<210> 264

<400> 264

000

<210> 265

<400> 265

000

<210> 266

<400> 266

000

<210> 267

<400> 267

000

<210> 268

<400> 268

000

<210> 269

<400> 269

000

<210> 270

<400> 270

000

<210> 271

<400> 271

000

<210> 272

<400> 272

000

<210> 273

<400> 273

000

<210> 274

<400> 274

000

<210> 275

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 275

Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Gly Gly Pro Ser Ser Pro Lys Lys
1 5 10 15

Lys Arg Lys Val Ser Arg Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly
20 25 30

Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr
35 40 45

Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg
50 55 60

Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly
65 70 75 80

Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu
85 90 95

Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile
100 105 110

Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu
115 120 125

Glu Thr Ser Tyr
130

<210> 276

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 276

Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys
1 5 10 15

Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly
20 25 30

Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met

35 40 45

Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu

85 90 95

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

100 105

<210> 277

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 277

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

1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys

85 90

<210> 278

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 278

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

1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser

85 90 95

<210> 279

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 279

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

1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser

85 90 95

<210> 280

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 280

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

1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser

85 90 95

<210> 281

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Any amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (78)..(78)

<223> Any amino acid

<400> 281

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

<210> 282

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 282

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Ile Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15
Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser

85 90 95

<210> 283

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 283

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

1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu

20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr

35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp

50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala

65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys Thr Ser

85 90 95

<210> 284

<211> 1132

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 284

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser

1 5 10 15

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly

20 25 30

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg

35 40 45

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro

50 55 60

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu

65 70 75 80

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val

85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro

100 105 110

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr

115 120 125

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val

130 135 140

Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val

145 150 155 160

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr

165 170 175

Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly

180 185 190

Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg

195 200 205

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

210 215 220

Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg

225 230 235 240

Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp
245 250 255
Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val

260 265 270
Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala
275 280 285
Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His
290 295 300
Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
305 310 315 320
Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly

325 330 335
Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
340 345 350
Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
355 360 365
Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
370 375 380
Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His

385 390 395 400
Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
405 410 415
Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
420 425 430
Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
435 440 445
Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe

450 455 460
Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
465 470 475 480
Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser

485 490 495

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met

500 505 510

Ser Val Arg Gly Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys

515 520 525

Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe

530 535 540

Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe

545 550 555 560

Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr

565 570 575

Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His

580 585 590

Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln

595 600 605

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

610 615 620

Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val

625 630 635 640

Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser

645 650 655

Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg

660 665 670

Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
740 745 750
Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
755 760 765
Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser

770 775 780
Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
785 790 795 800
Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
805 810 815
Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
820 825 830
Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp

835 840 845
Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860
Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880
Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895
Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu

900 905 910
Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925
Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940
Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960
Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly

965 970 975
Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn

980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln

995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln

1010 1015 1020

Gln Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp

1025 1030 1035

Thr Ala Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly

1040 1045 1050

Met Ser Leu Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu

1055 1060 1065

Ala Val Gln Trp Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr

1070 1075 1080

Arg His Arg Val Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr

1085 1090 1095

Ala Gln Thr Gln Leu Ser Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr

1100 1105 1110

Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys

1115 1120 1125

Thr Ile Leu Asp

1130

<210> 285

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 285

Arg Gly Asp Ser

1