

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0173368

(43) 공개일자 2024년12월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/725 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/7051 (2013.01)
A61K 39/4611 (2023.05)
- (21) 출원번호 10-2024-7039135(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2016년08월10일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2018-7006996
원출원일자(국제) 2016년08월10일
심사청구일자 2021년08월03일
- (85) 번역문제출일자 2024년11월25일
- (86) 국제출원번호 PCT/CN2016/094408
- (87) 국제공개번호 WO 2017/025038
국제공개일자 2017년02월16일
- (30) 우선권주장
201510490002.8 2015년08월11일 중국(CN)
201510733585.2 2015년11월02일 중국(CN)

- (71) 출원인
레전드 바이오테크 아일랜드 리미티드
아일랜드 디18 티934 더블린 18 샌디포드 비즈니
스 파크 밸리모스 로드 10에이
- (72) 발명자
관 싸오후
캐나다, 알버타 티6더블유 0케이3, 에드먼턴,
1067 아미티지 크레센트 에스더블유
초우 추안-추
미국, 뉴저지 07090, 웨스트필드, 909 프로스펙트
스트리트
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한얼

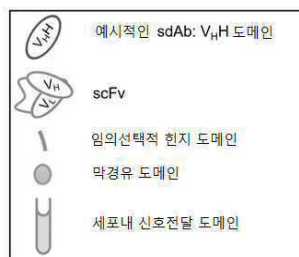
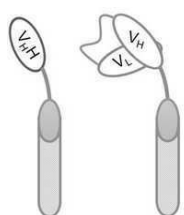
전체 청구항 수 : 총 43 항

(54) 발명의 명칭 단일-도메인 항체에 근거된 키메라 항원 수용체 및 이들의 이용 방법

(57) 요약

본 출원은 단일-도메인 항체, 그리고 단일-도메인 항체를 각각 포함하는 하나 또는 그 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체를 제공한다. 이들 키메라 항원 수용체를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 더욱 제공된다. 암을 치료하는 제약학적 조성물, 키트 및 방법 역시 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 39/4631 (2023.05)
A61K 39/464402 (2023.05)
A61K 39/464412 (2023.05)
A61K 39/464424 (2023.05)
C07K 16/2803 (2013.01)
C07K 16/2878 (2013.01)
C07K 16/2887 (2013.01)
C07K 16/2896 (2013.01)
C12N 5/0636 (2023.05)

(72) 발명자

장 치우추안

중국, 지양수 210012, 난징, 유후아타이 디스트릭트, 넘버 9, 유에청 인터내셔널 가든, 36 가든, 룸 104

왕 평안

중국, 안후이 233113, 평양, 우디안 타운

왕 린

중국, 지양수 211100, 난징, 슈안우 디스트릭트, 151넘버 슈양바이 엘리, 12 빌딩, 룸 207

양 레이

중국, 안후이 232052, 후아이난, 시에지아지 디스트릭트, 핑산 스트리트

하오 지아잉

중국, 지양수 211100, 난징, 지양닝 디스트릭트, 완신 가든, 주산 로드 378넘버

명세서

청구범위

청구항 1

다음에 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR):

- (a) 첫 번째 항원에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 두 번째 항원에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;
- (b) 막경유 도메인; 및
- (c) 세포내 신호전달 도메인.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 상이한 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 N 말단에서 위치되는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 4

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 C 말단에서 위치되는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 5

청구항 1-4 중에서 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 항원 및 두 번째 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 7

청구항 5에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-CD38 sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 8

청구항 5에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 9

청구항 5에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-CD20 sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 10

청구항 5에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-CD22 sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 11

청구항 6 또는 청구항 7에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD38 sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 12

청구항 6 또는 청구항 8에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 13

청구항 8 또는 청구항 9에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD20 sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 14

청구항 8 또는 청구항 10에 있어서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD22 sdAb인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 15

청구항 1-10 중에서 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 동일한 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 17

청구항 15에 있어서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 18

청구항 1-17 중에서 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 19

청구항 1-18 중에서 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 펩티드 결합을 통해 서로에 직접적으로 융합된 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 20

청구항 1-18 중에서 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 펩티드 링커는 약 50개 아미노산 길이 이내인 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 22

서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체 (sdAb).

청구항 23

다음에 포함하는 키메라 항원 수용체:

- (a) 청구항 22의 항-CD19 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;
- (b) 막경유 도메인; 및
- (c) 세포내 신호전달 도메인.

청구항 24

서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체 (sdAb).

청구항 25

다음을 포함하는 키메라 항원 수용체:

- (a) 청구항 24의 항-CD20 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;
- (b) 막경유 도메인; 및
- (c) 세포내 신호전달 도메인.

청구항 26

다음 중에서 한 가지를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체 (sdAb):

- (1) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (2) 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (3) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (4) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (5) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (6) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (7) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (8) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (9) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- (10) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- (11) 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.

청구항 27

다음을 포함하는 키메라 항원 수용체:

- (a) 청구항 26의 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;
- (b) 막경유 도메인; 및
- (c) 세포내 신호전달 도메인.

청구항 28

다음 중에서 한 가지를 포함하는 CDR을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체 (sdAb):

- (1) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고

서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(2) 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(3) 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(4) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(5) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(6) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(7) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(8) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(9) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(10) 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

(11) 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는

(12) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.

청구항 29

다음을 포함하는 키메라 항원 수용체:

(a) 청구항 28의 항-CD38 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인;

(b) 막경유 도메인; 및

(c) 세포내 신호전달 도메인.

청구항 30

청구항 1-21, 23, 25, 27 및 29 중에서 어느 한 항에 있어서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택되는 분자로부터 유래되는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 31

청구항 1-21, 23, 25, 27 및 29-30 중에서 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 32

청구항 31에 있어서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래되는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 33

청구항 1-21, 23, 25, 27 및 29-32 중에서 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 34

청구항 33에 있어서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래되는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 35

청구항 1-21, 23, 25, 27 및 29-34 중에서 어느 한 항에 있어서, 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 36

청구항 1-21, 23, 25, 27 및 29-35 중에서 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드를 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 CAR.

청구항 37

서열 번호: 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 및 265-270으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 항원 수용체.

청구항 38

청구항 1-21, 23, 25, 27 및 29-37 중에서 어느 한 항의 CAR을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산.

청구항 39

청구항 38의 단리된 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 40

청구항 1-21, 23, 25, 27 및 29-37 중에서 어느 한 항의 CAR, 청구항 38의 단리된 핵산, 또는 청구항 39의 벡터를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포.

청구항 41

청구항 40에 있어서, 면역 작동체 세포는 T 세포인 것을 특징으로 하는 가공된 면역 작동체 세포.

청구항 42

청구항 41의 가공된 면역 작동체 세포, 청구항 22의 항-CD19 sdAb, 청구항 24의 항-CD20 sdAb, 청구항 26의 항-BCMA sdAb, 또는 청구항 28의 항-CD38 sdAb, 그리고 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물.

청구항 43

개체에서 암을 치료하는 방법에 있어서, 청구항 42의 제약학적 조성물의 효과량을 개체에 투여하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명**기술 분야**

[0001] [관련된 출원에 대한 교차 참조]

[0002] 본 출원은 2015년 8월 11일자 제출된 중국 특허 출원 번호 CN201510490002.8 및 2015년 11월 2일자 제출된 중국 특허 출원 번호 CN201510733585.2에 우선권을 주장하고, 이들의 내용은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다.

[0003] [ASCII 텍스트 파일 형태에서 서열 목록의 제출]

[0004] ASCII 텍스트 파일 형태에서 제출된 다음의 내용은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다: 서열 목록 (파일 명칭: 761422000340SEQLISTING.txt, 기록된 일자: 2016년 8월 9일, 크기: 355 KB)의 컴퓨터 판독가능한 형태

(CRF).

[0005] [본 출원의 분야]

[0006] 본 발명은 단일-도메인 항체, 키메라 항원 수용체, 가공된 면역 작동체 세포, 그리고 이들의 이용 방법에 관계한다. 본 발명은 치료적 용도, 특히 키메라 항원 수용체-기초된 T 세포 면역요법을 위한 세포의 활성화 및 확대에 더욱 관계한다.

배경 기술

[0007] 종양 면역요법 및 임상적 기술의 발달로, 키메라 항원 수용체 T 세포 (CAR-T) 면역요법은 현재, 가장 유망한 종양 면역요법 접근법 중에서 한 가지이다. 일반적으로, 키메라 항원 수용체 (CAR)는 세포외 항원 결합 도메인, 막경유 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포외 항원 결합 도메인은 확인된 종양 항원을 표적으로 하는 단일 사슬 가변 단편 (scFv)을 포함할 수 있다. CARs는 유전자 형질감염 기술을 이용하여 T 세포의 표면 상에서 발현될 수 있다. 표적 종양 항원에 결합 시에, CARs는 표적 종양 항원에 특정한 주요 조직적합성 복합체 (MHC)의 이용가능성에 의해 제한됨 없이, 특정한 항종양 반응을 항원-의존성 방식으로 착수하도록 T 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0008] 단일-도메인 항체 (sdAbs)는 단일 단위체성 항체 가변 도메인을 가짐으로써 전통적인 4-사슬 항체와 상이하다. 가령, 낙타 및 상어는 경쇄를 자연적으로 결여하는, 중쇄-단독 항체 (HcAbs)로 명명된 단일-도메인 항체를 생산한다. 낙타 중쇄 단독 항체의 각 팔에서 항원 결합 단편은 단일 중쇄 가변 도메인 (V_HH)을 갖는데, 이것은 경쇄의 보조 없이 항원에 대한 높은 친화성을 가질 수 있다. 낙타 V_HH는 거의 15 kD의 분자량을 갖는 가장 작은 기능적 항원-결합 단편으로서 알려져 있다.

[0009] 본원에서 인용된 모든 간행물, 특허, 특허 출원 및 공개된 특허 출원의 개시는 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 출원은 단일-도메인 항체, 단일-도메인 항체에 근거된 키메라 항원 수용체 (CARs) (가령, V_HH 단편), 가공된 면역 작동체 세포, 그리고 암 면역요법에서 이들의 이용 방법을 제공한다.

[0011] 본 출원의 한 가지 양상은 서열 번호: 76의 CDR 영역을 포함하는 항-CD19 sdAb를 제공한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.

[0012] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-CD19 sdAbs 중에서 한 가지를 포함하는 항-CD19 중쇄 단독 항체 (HcAb) 또는 항원 결합 단백질이 제공된다.

[0013] 본 출원의 한 가지 양상은 (a) 항-CD19 sdAb (가령, 앞서 설명된 항-CD19 sdAbs 중에서 한 가지를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CD19 키메라 항원 수용체를 제공한다. 일부 구체예에서, CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CAR은 다가 (가령, 이가 또는 삼가)이다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적 (가령, 이중특이적)이다.

[0014] 본 출원의 한 가지 양상은 서열 번호: 77의 CDR 영역을 포함하는 항-CD20 sdAb를 제공한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.

[0015] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-CD20 sdAbs 중에서 한 가지를 포함하는 항-CD20 중쇄 단독 항체 (HCAB) 또는 항원 결합 단백질이 제공된다.

[0016] 본 출원의 한 가지 양상은 (a) 항-CD20 sdAb (가령, 앞서 설명된 항-CD20 sdAbs 중에서 한 가지를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CD20 키메라 항원 수용

체를 제공한다. 일부 구체예에서, CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CAR은 다가 (가령, 이가 또는 삼가)이다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적 (가령, 이중특이적)이다.

- [0017] 본 출원의 한 가지 양상은 서열 번호: 78-88 중에서 한 가지의 CDR 영역을 포함하는 항-BCMA sdAb를 제공한다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0018] (1) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0019] (2) 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0020] (3) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0021] (4) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0022] (5) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0023] (6) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0024] (7) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0025] (8) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0026] (9) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0027] (10) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0028] (11) 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0029] 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 78-88로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.
- [0030] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-BCMA sdAbs 중에서 한 가지를 포함하는 항-BCMA 중쇄 단독 항체 (HCAB) 또는 항원 결합 단백질이 제공된다.
- [0031] 본 출원의 한 가지 양상은 (a) 항-BCMA sdAb (가령, 앞서 설명된 항-BCMA sdAbs 중에서 한 가지)를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 BCMA 키메라 항원 수용체를 제공한다. 일부 구체예에서, CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CAR은 다가 (가령, 이가 또는 삼가)이다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적 (가령, 이중특이적)이다.
- [0032] 본 출원의 한 가지 양상은 서열 번호: 89-100 중에서 한 가지의 CDR 영역을 포함하는 항-CD38 sdAb를 제공한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0033] (1) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0034] (2) 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0035] (3) 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

- [0036] (4) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0037] (5) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0038] (6) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0039] (7) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0040] (8) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0041] (9) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0042] (10) 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0043] (11) 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0044] (12) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0045] 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 서열 번호: 89-100으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_H 도메인을 포함한다.
- [0046] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-BCMA sdAbs 중에서 한 가지를 포함하는 항-BCMA 중쇄 단독 항체 (HCAB) 또는 항원 결합 단백질이 제공된다.
- [0047] 본 출원의 한 가지 양상은 (a) 항-CD38 sdAb (가령, 앞서 설명된 항-CD38 sdAbs 중에서 한 가지)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CD38 키메라 항원 수용체를 제공한다. 일부 구체예에서, CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CAR은 다가 (가령, 이가 또는 삼가)이다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적 (가령, 이중특이적)이다.
- [0048] 본 출원의 한 가지 양상은 (a) 항-CD22 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CD22 키메라 항원 수용체를 제공한다. 일부 구체예에서, CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CAR은 다가 (가령, 이가 또는 삼가)이다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적 (가령, 이중특이적)이다.
- [0049] 본 출원의 한 가지 양상은 (a) 첫 번째 항원에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 두 번째 항원에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 제공한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 N 말단에서 위치된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 C 말단에서 위치된다.
- [0050] 앞서 제공된 CARs 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, 첫 번째 항원 및 두 번째 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb, 예를 들면, 앞서 설명된 BCMA sdAbs 중에서 한 가지이다. 일부 구체예에서, CAR은 항-BCMA sdAb의 최소한 2개의 사본 (가령, 2개, 3개, 또는 그 이상의 사본)을 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb, 예를 들면, 앞서 설명된 항-CD19 sdAbs 중에서 한 가지이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD20 sdAb, 예를 들면, 앞서 설명된 항-CD20 sdAbs 중에서 한 가지이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD38 sdAb, 예를 들면, 앞서 설명된 항-CD38 sdAbs 중에서 한 가지이다. 일부 구체예에서, CAR은 항-CD38 sdAb의 최소한 2개의 사본 (가령, 2개, 3개, 또는 그 이상의 사본)을 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함

한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD22 sdAb이다.

- [0051] 앞서 제공된 CARs 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 상이하다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD38 sdAb이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD20 sdAb이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD22 sdAb이다.
- [0052] 앞서 제공된 단일특이적 CARs 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 동일하다. 일부 구체예에서, CAR은 이가 또는 삼가이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb와 동일하다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 상이한 에피토프에 특이적으로 결합한다.
- [0053] 앞서 제공된 CARs 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다.
- [0054] 앞서 제공된 CARs 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 펩티드 결합을 통해 서로에 직접적으로 융합된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0055] 앞서 제공된 CARs (CD19 CARs, CD20 CARs, BCMA CARs, CD38 CARs, 그리고 CD22 CARs 포함) 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택되는 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 또는 CD28로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 서열 번호: 132 또는 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0056] 앞서 제공된 CARs (CD19 CARs, CD20 CARs, BCMA CARs, CD38 CARs, 그리고 CD22 CARs 포함) 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 140 또는 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0057] 앞서 제공된 CARs (CD19 CARs, CD20 CARs, BCMA CARs, CD38 CARs 및 CD22 CARs 포함) 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD28의 세포질 도메인 및/또는 CD137의 세포질 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 서열 번호: 136 및/또는 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0058] 앞서 제공된 CARs (CD19 CARs, CD20 CARs, BCMA CARs, CD38 CARs 및 CD22 CARs 포함) 중에서 한 가지에 따른 일부 구체예에서, CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 힌지 도메인은 CD8 α 로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 힌지 도메인은 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0059] 일부 구체예에서, CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 신호 펩티드는 CD8 α , GM-CSF 수용체 α 및 IgG1 중쇄로 구성된 군에서 선택되는 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 신호 펩티드는 CD8 α 로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 신호 펩티드는 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0060] 본 출원의 한 가지 양상은 표 4, 5 및 6에서 열거된 임의의 한 가지의 키메라 항원 수용체를 제공한다. 일부 구체예에서, CAR은 서열 번호: 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 및 265-270으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0061] 본 출원의 한 가지 양상은 서열 번호: 76-100, 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 및 265-270으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 제공한다.
- [0062] 본 출원의 한 가지 양상은 앞서 제공된 CARs (CD19 CARs, CD20 CARs, BCMA CARs, CD38 CARs 및 CD22 CARs

포함) 중에서 한 가지를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산을 제공한다. 일부 구체예에서, 핵산 서열은 서열 번호: 175-197, 202-205, 217-227, 250-251, 261-264 및 271-276으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 두 번째 CAR을 인코딩하는 두 번째 핵산 서열을 더욱 포함하고, 여기서 CAR을 인코딩하는 핵산 서열은 자가-개열 펩티드, 예를 들면, T2A, P2A, 또는 F2A 펩티드를 인코딩하는 세 번째 핵산 서열을 통해 두 번째 핵산 서열에 작동가능하게 연결된다. 일부 구체예에서, 세 번째 핵산 서열은 서열 번호: 256이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA 분자이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA 분자이다.

[0063] 본 출원의 한 가지 양상은 앞서 설명된 단리된 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 렌티바이러스 벡터이다.

[0064] 본 출원의 한 가지 양상은 앞서 제공된 CARs (CD19 CARs, CD20 CARs, BCMA CARs, CD38 CARs 및 CD22 CARs 포함) 중에서 한 가지, 또는 앞서 설명된 단리된 핵산 중에서 한 가지, 또는 앞서 설명된 벡터 중에서 한 가지를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포를 제공한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 앞서 설명된 2개 또는 그 이상의 CARs (CD19 CARs, CD20 CARs, BCMA CARs, CD38 CARs 및 CD22 CARs 포함)를 포함하거나 또는 발현하고, 여기서 2개 또는 그 이상의 CARs는 상이한 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 면역 작동체 세포는 T 세포이다.

[0065] 본 출원의 한 가지 양상은 앞서 설명된 가공된 면역 작동체 세포 중에서 한 가지 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물을 제공한다. 개체에서 암을 치료하는 방법이 더욱 제공되고, 상기 방법은 앞서 설명된 제약학적 조성물 중에서 한 가지의 효과량을 개체에 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암이다. 일부 구체예에서, 암은 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다. 일부 구체예에서, 암은 고형암, 예를 들면, 교모세포종이다.

[0066] 본 출원의 한 가지 양상은 앞서 설명된 항-CD19 sdAbs, 항-CD20 sdAbs, 항-CD38 sdAbs 또는 항-BCMA sdAbs 중에서 한 가지 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물을 제공한다. 일부 구체예에서, 개체에서 질환 (가령, 암)을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 제약학적 조성물의 효과량을 개체에 투여하는 것을 포함한다.

[0067] 앞서 설명된 단일-도메인 항체, CARs, 가공된 면역 작동체 세포, 단리된 핵산, 또는 벡터 중에서 한 가지를 포함하는 이용 방법, 키트 및 제조 물품 역시 제공된다.

과제의 해결 수단

[0068] 본 출원은 단일-도메인 항체 (sdAb) 기초된 세포의 항원 결합 도메인을 포함하는 단일특이적, 다중특이적 (가령, 이중특이적) 및 다가 (가령, 이가 또는 삼가) 키메라 항원 수용체를 제공한다. 전통적인 4-사슬 항체로부터 유래된 항원 결합 단편과 달리, sdAbs는 단지, 단일 가변 도메인, 예를 들면, V_{HH} 만을 내포한다. 따라서, sdAbs는 CARs에서 세포의 항원 결합 도메인으로서 현재 이용되는 항원 결합 단편, 예를 들면, scFvs보다 크기에서 훨씬 작다. 또한, sdAbs의 접합 동안 중쇄 및 경쇄의 짝짓기가 필요하지 않기 때문에, sdAbs에 근거된 CARs를 발현하는 가공된 면역 세포에서는 세포의 항원 결합 도메인의 오접합이 감소될 수 있다. 상이한 에피토프 또는 항원을 표적으로 하는 sdAb의 복수 사본 또는 복수 sdAbs를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 갖는 CARs는 편의하게 작제되고 재조합적으로 생산될 수 있고, 따라서 다가 및 다중특이적 CARs의 제조 및 선별검사를 위한 효율적인 플랫폼을 제공한다. 추가적으로, sdAbs의 작은 발자국은 종양 조직 내에서 숨은 항원 표적 및 에피토프에 CARs의 접근을 허용할 수 있다.

[0069] 다중특이적 및 다가 CARs는 암 면역요법에서 단일특이적 일가 CARs에 비하여 향상된 효력을 가질 수 있다. 암 세포는 유전적으로 불안정한데, 이것은 이들 세포가 표적 항원을 인코딩하는 유전자를 돌연변이시키거나 또는 상실함으로써 표적화된 요법으로부터 도피하도록 허용한다. 암 세포 상에서 2개 또는 그 이상의 상이한 에피토프 또는 항원을 표적으로 함으로써, 다가 또는 다중특이적 CARs는 암 세포가 이들 CARs를 발현하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)에 의한 표적화로부터 완전하게 도피하는 것을 더욱 어렵게 만들 수 있다. 본 출원의 다가 또는 다중특이적 CARs에서 세포의 항원 결합 도메인으로서 이용되는 나란히 융합된 단일-도메인 항체는 그들의 작은 크기 때문에, 그들의 개별 구조적 완전성 및 표적 항원에 대한 결합 친화성을 보존하고, 따라서 이들 CARs에 의한 각 에피토프 또는 항원의 효과적인 표적화를 허용할 수 있다. 다가 또는 다중특이적 CARs를 발

현하거나, 또는 상이한 중앙 항원을 표적으로 하는 2개 또는 그 이상의 키메라 항원 수용체를 공동발현하는 가공된 면역 작동체 세포는 단백질-항원 처리 및 제시에서 이상에 기인하는 중앙 면역 도피 기전을 극복할 수 있다.

[0070] 따라서, 본 출원의 한 가지 양상은 (a) 첫 번째 항원에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 두 번째 항원에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (CAR)를 제공하고, 여기서 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 상이하다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항원은 BCMA이고, 그리고 두 번째 항원은 CD38이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항원은 CD19이고, 그리고 두 번째 항원은 BCMA이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항원은 CD19이고, 그리고 두 번째 항원은 CD20이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항원은 CD19이고, 그리고 두 번째 항원은 CD22이다.

[0071] 다른 양상에서, (a) 항원에 특이적으로 결합하는 복수의 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 키메라 항원 수용체 (CAR)가 제공된다.

[0072] 다른 양상에서, (a) 항원의 첫 번째 에피토프에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 및 항원의 두 번째 에피토프에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 키메라 항원 수용체 (CAR)가 제공되고, 여기서 첫 번째 에피토프는 두 번째 에피토프와 상이하다.

[0073] 신규한 항-CD19, 항-CD20, 항-BCMA 및 항-CD38 단일-도메인 항체, 그리고 이들 sdAbs 중에서 한 가지를 포함하는 키메라 항원 수용체가 더욱 제공된다.

[0074] 이들 CARs를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포), 제약학적 조성물, 키트, 제조 물품, 그리고 이들 가공된 면역 작동체 세포 또는 단일-도메인 항체를 이용하여 암을 치료하는 방법 역시 본원에서 설명된다.

[0075] I.정의

[0076] 본 발명의 실시는 반대로 구체적으로 지시되지 않으면, 당해 분야의 기술 내에 바이러스학, 면역학, 미생물학, 분자생물학 및 재조합 DNA 기술의 전통적인 방법을 이용할 것인데, 이들 중에서 다수가 예시의 목적으로 아래에 설명된다. 이런 기술은 기존 문헌에서 완전히 설명된다. 가령, Current Protocols in Molecular Biology or Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, New York, N.Y.(2009); Ausubel *et al*, Short Protocols in Molecular Biology, 3rd ed., Wiley & Sons, 1995; Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Edition, 2001); Maniatis *et al*. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (1982); DNA Cloning: A Practical Approach, vol. I & II (D. Glover, ed.); Oligonucleotide Synthesis (N. Gait, ed., 1984); Nucleic Acid Hybridization (B. Hames & S. Higgins, eds., 1985); Transcription and Translation (B. Hames & S. Higgins, eds., 1984); Animal Cell Culture (R. Freshney, ed., 1986); Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (1984) 및 다른 유사 참고문헌을 참조한다.

[0077] 용어 "항체"는 단일클론 항체 (면역글로불린 Fc 영역을 갖는 전장 4-사슬 항체 또는 전장 중쇄 단독 항체 포함), 폴리에피토프 특이성을 갖는 항체 조성물, 다중특이적 항체 (가령, 이중특이적 항체, 디아바디 및 단일 사슬 분자)뿐만 아니라 항체 단편 (가령, Fab, F(ab')₂ 및 Fv)을 포함한다. 용어 "면역글로불린" (Ig)은 본원에서 "항체"와 교체가가능하게 이용된다. 본원에서 예기된 항체는 단일-도메인 항체, 예를 들면, 중쇄 단독 항체를 포함한다.

[0078] 기본 4-사슬 항체 단위는 2개의 동일한 가벼운 (L) 사슬 및 2개의 동일한 무거운 (H) 사슬로 구성된 헤테로사합체성 당단백질이다. IgM 항체는 J 사슬로 불리는 추가 폴리펩티드와 함께 5개의 기본 헤테로사합체 단위로 구성되고 10개의 항원 결합 부위를 내포하고, 반면 IgA 항체는 중합하여 J 사슬과 함동으로 다가 기계조립을 형성할 수 있는 2-5개의 기본 4-사슬 단위를 포함한다. IgG의 경우에, 4-사슬 단위는 일반적으로, 약 150,000 달톤이다. 각 L 사슬은 하나의 공유 이황화 결합에 의해 H 사슬에 연결되고, 반면 2개의 H 사슬은 H 사슬 아이소타입에 따라, 하나 또는 그 이상의 이황화 결합에 의해 서로 연결된다. 각 H와 L 사슬은 또한, 규칙적으로 이격된 사슬내 이황화 다리를 갖는다. 각 H 사슬은 N 말단에서, 가변 도메인 (V_H), 그 이후에 α와 γ 사슬 각각에 대해 3개의 불변 도메인 (C_H) 및 μ와 ε 아이소타입에 대해 4개의 C_H 도메인을 갖는다. 각 L 사슬은 N 말단에서, 가변 도메인 (V_L), 그 이후에 이의 다른 단부에서 불변 도메인을 갖는다. V_L은 V_H에 맞추어 정렬되고, 그

리고 C_L 은 중쇄의 첫 번째 불변 도메인 (C_H1)에 맞추어 정렬된다. 특정 아미노산 잔기는 경쇄와 중쇄 가변 도메인 사이에 인터페이스를 형성하는 것으로 생각된다. V_H 와 V_L 의 짝짓기는 단일 항원 결합 부위를 함께 형성한다. 항체의 상이한 부류의 구조와 성질에 대해, 가령 *Basic and Clinical Immunology*, 8th Edition, Daniel P. Sties, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds), Appleton & Lange, Norwalk, Conn., 1994, page 71 및 Chapter 6을 참조한다. 임의의 척추동물 종으로부터 L 사슬은 그들의 불변 도메인의 아미노산 서열에 근거하여, 카파와 람다로 불리는 2가지 명확하게 상이한 유형 중에서 한 가지에 배정될 수 있다. 중쇄의 불변 도메인 (C_H)의 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 부류 또는 아이소타입에 배정될 수 있다. 5가지 부류의 면역글로불린이 있다: 각각, α , δ , ϵ , γ 및 μ 로서 지정된 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM. γ 와 α 부류는 C_H 서열과 기능에서 상대적으로 작은 차이에 근거하여 하위부류로 더욱 나뉜다, 가령, 인간은 다음의 하위부류를 발현한다: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2.

[0079] 용어 "중쇄-단독 항체" 또는 "HCAb"는 중쇄를 포함하지만, 4-사슬 항체에서 통상적으로 발견되는 경쇄를 결여하는 기능적 항체를 지칭한다. 낙타 동물 (가령, 낙타, 라마 또는 알파카)는 HCAs를 생산하는 것으로 알려져 있다.

[0080] 용어 "단일-도메인 항체" 또는 "sdAb"는 3개의 상보성 결정 영역 (CDRs)을 갖는 단일 항원 결합 폴리펩티드를 지칭한다. sdAb 단독은 상응하는 CDR-내포 폴리펩티드와의 짝짓기 없이 항원에 결합할 수 있다. 일부 경우에, 단일-도메인 항체는 낙타 HCAs로부터 가공되고, 그리고 이들의 중쇄 가변 도메인은 본원에서 " V_H hs"로서 지칭된다. 일부 V_H hs는 또한, 나노바디로서 알려져 있을 수 있다. 낙타 sdAb는 가장 작은 공지된 항원 결합 항체 단편 중에서 한 가지이다 (가령, Hamers-Casterman *et al.*, Nature 363:446-8 (1993); Greenberg *et al.*, Nature 374:168-73 (1995); Hassanzadeh-Ghassabeh *et al.*, Nanomedicine (Lond), 8:1013-26 (2013)을 참조한다). 기본 V_H hs는 N 말단으로부터 C 말단까지 다음의 구조를 갖는다: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, 여기서 FR1 내지 FR4는 각각, 프레임워크 영역 1 내지 4를 지칭하고, 그리고 여기서 CDR1 내지 CDR3은 상보성 결정 영역 1 내지 3을 지칭한다.

[0081] "단리된" 항체는 생산 환경 (가령, 자연 또는 재조합)의 성분으로부터 확인되고, 분리되고 및/또는 회수된 것이다. 바람직하게는, 단리된 폴리펩티드는 이의 생산 환경으로부터 모든 다른 성분과의 연관이 없다. 생산 환경의 오염체 성분, 예를 들면, 재조합 형질감염된 세포로부터 발생하는 것은 상기 항체에 대한 연구, 진단적 이용 또는 치료적 이용을 전형적으로 간섭하는 물질이고, 그리고 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 구체예에서, 폴리펩티드는 (1) 예로서, 로리법에 의해 결정될 때 항체의 중량으로 95%보다 크게, 그리고 일부 구체예에서, 중량으로 99%보다 크게; (1) 회전 컵 배열결정장치의 이용에 의해 N 말단 또는 내부 아미노산 서열의 최소한 15개 잔기를 획득하는데 충분한 정도까지, 또는 (3) 쿠마시 블루 또는 바람직하게는, 은 염색을 이용하여 비환원 또는 환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의해 균질성까지 정제될 것이다. 단리된 항체는 재조합 세포 내에서 원지에서 항체를 포함하는데, 그 이유는 항체의 자연 환경의 최소한 하나의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 하지만, 통상적으로, 단리된 폴리펩티드 또는 항체는 최소한 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0082] 항체의 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노 말단 도메인을 지칭한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은 각각, " V_H " 및 " V_L "로서 지칭될 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로, 항체의 최대 가변적 부분 (동일한 부류의 다른 항체에 비하여)이고 항원 결합 부위를 내포한다. 낙타 종으로부터 중쇄 단독 항체는 단일 중쇄 가변 영역을 갖는데, 이것은 " V_H "로서 지칭된다. V_H 는 따라서, V_H 의 특수한 유형이다.

[0083] 용어 "가변적"은 가변 도메인의 일정한 분절이 항체 사이에서 서열에서 광범위하게 다르다는 사실을 지칭한다. V 도메인은 항원 결합을 매개하고, 그리고 특정 항원에 대한 특정 항체의 특이성을 규정한다. 하지만, 가변성은 가변 도메인의 전체 스펙에 걸쳐 균등하게 분포되지 않는다. 그 대신에, 이것은 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 모두에서 초가변 영역 (HVRs)으로 불리는 3개의 분절에서 농축된다. 가변 도메인의 더욱 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역 (FR)으로 불린다. 선천적 중쇄와 경쇄의 가변 도메인은 각각, 3개의 HVRs에 의해 연결된, 베타-시트 형상을 주로 채택하는 4개의 FR 영역을 포함하고, 이들은 루프 연결을 형성하고, 그리고 일부 경우에, 베타-시트 구조의 일부를 형성한다. 각 사슬에서 HVRs는 FR 영역에 의해 매우 근접하여 결합되고, 그리고 다른 사슬로부터 HVRs와 함께, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다 (Kabat *et al.*, *Sequences of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md (1991)를 참조한다). 불변 도메인은

항체를 항원에 결합시키는데 직접적으로 관련되지 않지만, 다양한 작동체 기능, 예를 들면, 항체 의존성 세포 세포독성 (ADCC)에서 항체의 참여를 전시한다.

[0084] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "단일클론 항체"는 실제로 균질한 항체의 개체군으로부터 획득된 항체를 지칭한다. 다시 말하면, 상기 개체군을 구성하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생 돌연변이 및/또는 번역후 변형 (가령, 이성화, 아미드화)을 제외하고 동일하다. 단일클론 항체는 고도로 특이적이고 단일 항원성 부위에 대해 지향된다. 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지향된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다중클론 항체 제조물과 대조적으로, 각 단일클론 항체는 항원 상에서 단일 결정인자에 대해 지향된다. 단일클론 항체는 그들의 특이성에 더하여, 하이브리도마 배양에 의해 또는 재조합적으로 합성되고, 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않는다는 점에서 유리하다. 수식어 "단일클론"은 항체의 실제로 균질한 개체군으로부터 획득되는 것으로서 항체의 특징을 지시하고, 그리고 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되지 않는다. 가령, 본 발명에 따라서 이용되는 단일클론 항체는 예로서, 하이브리도마 방법 (가령, Kohler and Milstein., *Nature*, 256:495-97 (1975); Hongo *et al.*, *Hybridoma*, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling *et al.*, in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), 재조합 DNA 방법 (가령, U.S. 특허 번호 4,816,567을 참조한다), 파지 전사 기술 (가령, Clackson *et al.*, *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004)를 참조한다), 그리고 인간 면역글로불린 서열을 인코딩하는 인간 면역글로불린 좌위 또는 유전자 중에서 일부 또는 전부를 갖는 동물에서 인간 또는 인간-유사 항체를 생산하기 위한 기술 (가령, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature* 362: 255-258 (1993); Bruggemann *et al.*, *Year in Immunol.* 7:33 (1993); U.S. 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016; Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg *et al.*, *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994); Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996); 및 Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995)를 참조한다)를 비롯한 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있다.

[0085] 용어 "나신 항체"는 세포독성 모이머티 또는 방사성 표지에 접합되지 않는 항체를 지칭한다.

[0086] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 또는 "전체 항체"는 항체 단편과는 대조적으로, 실제로 무손상 형태에서 항체를 지칭하기 위해 교체가능하게 이용된다. 구체적으로, 전장 4-사슬 항체는 Fc 영역을 포함하는 중쇄와 경쇄를 갖는 것들을 포함한다. 전장 중쇄 단독 항체는 중쇄 (가령, V_HH) 및 Fc 영역을 포함한다. 불변 도메인은 선천적 서열 불변 도메인 (가령, 인간 선천적 서열 불변 도메인) 또는 이들의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 일부 경우에, 무손상 항체는 하나 또는 그 이상의 작동체 기능을 가질 수 있다.

[0087] "항체 단편"은 무손상 항체의 부분, 바람직하게는 무손상 항체의 항원 결합 및/또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 실례는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체 (U.S. 특허 번호 5,641,870, 실시예 2; Zapata *et al.*, *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062 [1995]를 참조한다); 단일 사슬 항체 분자; 단일-도메인 항체 (가령, V_HH), 그리고 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다. 항체의 파파인 소화는 "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편, 그리고 쉽게 결정화하는 능력을 반영하는 명칭인 잔여 "Fc" 단편을 생산한다. Fab 단편은 H 사슬의 가변 영역 도메인 (V_H), 그리고 중쇄의 첫 번째 불변 도메인 (C_{H1})과 함께, 전체 L 사슬로 구성된다. 각 Fab 단편은 항원 결합에 대하여 일가이다. 다시 말하면, 이것은 단일 항원 결합 부위를 갖는다. 항체의 펩신 처리는 상이한 항원 결합 활성을 갖는 2개의 이황화 연결된 Fab 단편에 거의 상응하고 항원을 여전히 교차 연결할 수 있는 단일 큰 F(ab')₂ 단편을 산출한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터 하나 또는 그 이상의 시스테인을 포함하는 C_{H1} 도메인의 카르복시 말단에서 소수의 추가 잔기를 가짐으로써 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 본원에서, 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 유리 티올 기를 보유하는 Fab'에 대한 명칭이다. F(ab')₂ 항체 단편은 Fab' 단편의 쌍으로서 최초 생산되었는데, 이들은 그들 사이에 힌지 시스테인을 갖는다. 항체 단편의 다른 화학적 연계 역시 알려져 있다.

- [0088] Fc 단편은 이황화물에 의해 묶인 양쪽 H 사슬의 카르복시 말단 부분을 포함한다. 항체의 작동체 기능은 Fc 영역 내에 서열에 의해 결정되는데, 이러한 영역은 또한, 일정한 유형의 세포 상에서 발견되는 Fc 수용체 (FcR)에 의해 인식된다.
- [0089] "Fv"는 완전 항원-인식 및 -결합 부위를 내포하는 최소 항체 단편이다. 이러한 단편은 단단한, 비공유 연관에서 하나의 중쇄와 하나의 경쇄 가변 영역 도메인의 이합체로 구성된다. 이들 두 도메인의 접힘으로부터, 항원 결합을 위한 아미노산 잔기에 기여하고 항원 결합 특이성을 항체에 부여하는 6개의 초가변 루프 (H와 L 사슬 각각으로부터 3개의 루프)가 발산된다. 하지만, 심지어 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특정한 단지 3개의 HVRs만을 포함하는 Fv의 절반)도 비록 전체 결합 부위보다 친화성이 낮은 하지만, 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 갖는다.
- [0090] 또한 "sFv" 또는 "scFv"로서 약칭되는 "단일 사슬 Fv"는 단일 폴리펩티드 사슬 내로 연결된 V_H 와 V_L 항체 도메인을 포함하는 항체 단편이다. 바람직하게는, sFv 폴리펩티드는 V_H 와 V_L 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 더욱 포함하는데, 이것은 sFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 한다. sFv의 리뷰를 위해, Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)를 참조한다.
- [0091] 본원에서 설명된 항체의 "기능적 단편"은 무손상 항체의 항원 결합 또는 가변 영역, 또는 변형된 FcR 결합 능력을 유지하거나 또는 갖는 항체의 Fc 영역을 일반적으로 포함하는 무손상 항체의 일부를 포함한다. 항체 단편의 실례는 선형 항체, 단일 사슬 항체 분자 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.
- [0092] 용어 "디아바디"는 V 도메인의 사슬내가 아닌 사슬간 짝짓기가 달성되어 이가 단편, 다시 말하면, 2개의 항원 결합 부위를 갖는 단편이 산출되도록, V_H 와 V_L 도메인 사이에 짧은 링커 (약 5-10 잔기)로 sFv 단편 (선행하는 단락 참조)을 구축함으로써 제조된 작은 항체 단편을 지칭한다. 이중특이적 디아바디는 2개의 "교배" sFv 단편의 이형이합체인데, 여기서 이들 두 항체의 V_H 와 V_L 도메인은 상이한 폴리펩티드 사슬 상에 존재한다. 디아바디는 예로서, EP 404,097; WO 93/11161; Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)에서 더욱 상세하게 설명된다.
- [0093] 본원에서 단일클론 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 또는 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 또는 이들 서열과 상동하고, 반면 사슬(들)의 나머지 부분이 다른 종으로부터 유래되거나 또는 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 또는 이들 서열에 상동한 "키메라" 항체뿐만 아니라 원하는 생물학적 활성을 전시하기만 하면, 이런 항체의 단편을 특정적으로 포함한다 (U.S. 특허 번호 4,816,567; Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). 본원에서 관심되는 키메라 항체는 PRIMATTZFD® 항체를 포함하는데, 여기서 상기 항체의 항원 결합 영역은 예로서, 마카크 원숭이를 관심되는 항원으로 면역화함으로써 생산된 항체로부터 유래된다. 본원에서 이용된 바와 같이, "인간화 항체"는 "키메라 항체"의 부분집합으로서 이용된다.
- [0094] 비인간 (가령, 낙타) 항체의 "인간화" 형태는 비인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 내포하는 키메라 항체이다. 일부 구체예에서, 인간화 항체는 수용자의 HVR (아래에 규정됨)로부터 잔기가 원하는 특이성, 친화성 및/또는 능력을 갖는, 비인간 중 (공여자 항체), 예를 들면, 생쥐, 쥐, 토끼 또는 비인간 영장류의 HVR로부터 잔기에 의해 대체되는 인간 면역글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 프레임워크 ("FR") 잔기가 상응하는 비인간 잔기에 의해 대체된다. 게다가, 인간화 항체는 수용자 항체에서 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능, 예를 들면, 결합 친화성을 더욱 정밀화하기 위해 만들어질 수 있다. 일반적으로, 비록 FR 영역이 항체 성과, 예를 들면, 결합 친화성, 이성화, 면역원성 등을 향상시키는 하나 또는 그 이상의 개별 FR 잔기 치환을 포함할 수 있긴 하지만, 인간화 항체는 최소한 하나, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실제로 모두 포함할 것이고, 여기서 초가변 루프의 전부 또는 실제로 전부 비인간 면역글로불린 서열의 것들에 상응하고, 그리고 FR 영역의 전부 또는 실제로 전부 인간 면역글로불린 서열의 것들이다. FR에서 이들 아미노산 치환의 숫자는 전형적으로, H 사슬에서 6개 이내이고 L 사슬에서 3개 이내이다. 인간화 항체는 임의선택적으로 또한, 전형적으로 인간 면역글로불린의 면역글로불린 불변 영역 (Fc)의 최소한 일부를 포함할 것이다. 추가 상세를 위해, 가령 Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); 및 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)을 참조한다. 또한, 예로서 Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, *Curr. Op.*

Biotech. 5:428-433 (1994); 및 U.S. 특허 번호 6,982,321 및 7,087,409를 참조한다.

[0095] "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 소유하고 및/또는 본원에서 개시된 바와 같은 인간 항체를 만들기 위한 기술 중에서 한 가지를 이용하여 만들어진 항체이다. 인간 항체의 이러한 정의는 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 특징적으로 배제한다. 인간 항체는 파지 전사 라이브러리를 비롯하여, 당해 분야에서 공지된 다양한 기술을 이용하여 생산될 수 있다. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). 인간 단일클론 항체의 제조를 위해, Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991)에서 설명된 방법 역시 유용하다. 또한, van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001)를 참조한다. 인간 항체는 항원 공격에 대한 응답으로 이런 항체를 생산하도록 변형되지만, 내인성 좌위에 장애가 있는 유전자도입 동물, 예를 들면, 면역화된 제노마우스에 항원을 투여함으로써 제조될 수 있다 (가령, XENOMOUSE™ 기술에 관하여 U.S. 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584를 참조한다). 또한, 인간 B-세포 하이브리도마 기법을 통해 산출된 인간 항체에 관하여, 예로서 Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)를 참조한다.

[0096] 본원에서 이용될 때, 용어 "초가변 영역", "HVR" 또는 "HV"는 서열에서 초가변성이고 및/또는 구조적으로 규정된 루프를 형성하는 항체 가변 도메인의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 단일-도메인 항체는 3개의 HVRs (또는 CDRs): HVR1 (또는 CDR1), HVR2 (또는 CDR2) 및 HVR3 (또는 CDR3)을 포함한다. HVR3은 3개의 HVRs 중에서 최대 다양성을 전시하고, 그리고 충분한 특이성을 항체에 부여하는데 있어서 독특한 역할을 수행하는 것으로 생각된다. 가령, Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993); Sheriff *et al.*, *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996)을 참조한다.

[0097] 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 Kabat 시스템에 의해 규정된 바와 같은 초가변 영역을 지칭하는데 이용된다. Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)을 참조한다.

[0098] 다수의 HVR 묘사가 본원에서 이용되고 포괄된다. Kabat 상보성 결정 영역 (CDRs)은 서열 가변성에 근거되고, 그리고 가장 흔히 이용되는 것이다 (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Chothia는 그 대신에, 구조적 루프의 위치를 지칭한다 (Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). AbM HVRs는 Kabat HVRs 및 Chothia 구조적 루프 사이에 타협을 나타내고, 그리고 Oxford Molecular의 AbM 항체 모형화 소프트웨어에 의해 이용된다. "접촉" HVRs는 가용한 복합 결정 구조의 분석에 근거된다. 이들 HVRs 각각으로부터 잔기는 아래의 표 1에서 제시된다.

[0099] 표 1. HVR 묘사.

표 1

루프	Kabat	AbM	Chothia	접촉
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B
(Kabat 넘버링)				
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
(Chothia 넘버링)				
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0101] HVRs는 아래와 같이 "연장된 HVRs"를 포함할 수 있다: V_L 에서 24-36 또는 24-34 (L1), 46-56 또는 50-56 (L2) 및 89-97 또는 89-96 (L3), 그리고 V_H 에서 26-35 (H1), 50-65 또는 49-65 (H2) 및 93-102, 94-102 또는 95-102 (H3). 가변 도메인 잔기는 이들 정의 각각에 대해 Kabat *et al.*, 위와 같음에 따라 넘버링된다. 단일-도메인 항체 (가령, V_HH)의 아미노산 잔기는 Riechmann and Muyldermans, *J. Immunol. Methods* 2000 Jun. 23; 240 (1-

2): 185-195의 논문에서 낙타로부터 V_H 도메인에 적용된 바와 같이, Kabat et al. ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, Md., Publication No. 91)에 의해 제공된 V_H 도메인에 대한 일반적인 넘버링에 따라 넘버링된다. 이러한 넘버링에 따라, V_H 의 FR1은 위치 1-30에서 아미노산 잔기를 포함하고, V_H 의 CDR1은 위치 31-35에서 아미노산 잔기를 포함하고, V_H 의 FR2는 위치 36-49에서 아미노산을 포함하고, V_H 의 CDR2는 위치 50-65에서 아미노산 잔기를 포함하고, V_H 의 FR3은 위치 66-94에서 아미노산 잔기를 포함하고, V_H 의 CDR3은 위치 95-102에서 아미노산 잔기를 포함하고, 그리고 V_H 의 FR4는 위치 103-113에서 아미노산 잔기를 포함한다. 이점에 관하여, 주목해야 할 것은 - V_H 도메인 및 V_H 도메인에 대해 당해 분야에서 널리 공지된 바와 같이 - 각 CDR에서 아미노산 잔기의 총수가 변할 수 있고, 그리고 Kabat 넘버링에 의해 지시된 아미노산 잔기의 총수에 상응하지 않을 수 있다는 점이다 (다시 말하면, Kabat 넘버링에 따른 하나 또는 그 이상의 위치가 실제 서열에서 점유되지 않을 수 있거나, 또는 실제 서열이 Kabat 넘버링에 의해 허용된 숫자보다 더욱 많은 아미노산 잔기를 내포할 수 있다).

[0102] 표현 "Kabat에서처럼 가변적-도메인 잔기-넘버링" 또는 "Kabat에서처럼 아미노산-위치 넘버링" 및 이들의 변이는 Kabat et al., 위와 같음에서 항체의 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 이용된 넘버링 시스템을 지칭한다. 이러한 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 단축, 또는 이것 내로 삽입에 상응하는 더욱 적은 또는 추가 아미노산을 내포할 수 있다. 가령, 중쇄 가변 도메인은 H2의 잔기 52 뒤에 단일 아미노산 삽입물 (Kabat에 따라 잔기 52a), 그리고 중쇄 FR 잔기 82 뒤에 삽입된 잔기 (가령, Kabat에 따라 잔기 82a, 82b 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 Kabat 넘버링은 항체의 서열과 "표준" Kabat 넘버링된 서열의 상동성의 영역에서 정렬에 의해 소정의 항체에 대해 결정될 수 있다.

[0103] 본원에서 달리 지시되지 않으면, 면역글로불린 중쇄에서 잔기의 넘버링은 Kabat et al., 위와 같음에서처럼 EU 지수의 넘버링이다. "Kabat에서처럼 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 번호를 지칭한다.

[0104] "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에서 규정된 바와 같은 HVR 잔기 이외에 가변-도메인 잔기이다.

[0105] "인간 공통 프레임워크" 또는 "수용자 인간 프레임워크"는 인간 면역글로불린 V_L 또는 V_H 프레임워크 서열의 선별에서 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 V_L 또는 V_H 서열은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 선별된다. 일반적으로, 서열의 하위군은 Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)에서와 같은 하위군이다. 가령, V_L 의 경우에, 하위군은 Kabat et al., 위와 같음에서처럼 하위군 카파 I, 카파 II, 카파 III 또는 카파 IV일 수 있다. 추가적으로, V_H 의 경우에, 하위군은 Kabat et al.에서처럼 하위군 I, 하위군 II 또는 하위군 III일 수 있다. 대안으로, 인간 공통 프레임워크가 상기로부터 유래될 수 있는데, 여기서 특정 잔기, 예를 들면, 인간 프레임워크 잔기는 공여자 프레임워크 서열을 다양한 인간 프레임워크 서열의 수집물과 함께 정렬함으로써 공여자 프레임워크에 대한 상동성에 근거하여 선별된다. 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 이의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 이것은 기존 아미노산 서열 변화를 내포할 수 있다. 일부 구체예에서, 기존 아미노산 변화의 숫자는 10 또는 그 이하, 9 또는 그 이하, 8 또는 그 이하, 7 또는 그 이하, 6 또는 그 이하, 5 또는 그 이하, 4 또는 그 이하, 3 또는 그 이하, 또는 2 또는 그 이하이다.

[0106] 가령, Fc 영역의 특정된 위치에서 "아미노산 변형"은 특정된 잔기의 치환 또는 결실, 또는 특정된 잔기에 인접한 최소한 하나의 아미노산 잔기의 삽입을 지칭한다. 특정된 잔기에 "인접한" 삽입은 이들의 1 내지 2개 잔기 이내에 삽입을 의미한다. 삽입은 특정된 잔기의 N 말단 또는 C 말단일 수 있다. 본원에서 바람직한 아미노산 변형은 치환이다.

[0107] "친화성 성숙된" 항체는 변경(들)을 소유하지 않는 부모 항체와 비교하여, 항원에 대한 항체의 친화성에서 향상을 유발하는, 하나 또는 그 이상의 HVRs에서 하나 또는 그 이상의 변경을 갖는 것이다. 일부 구체예에서, 친화성 성숙된 항체는 표적 항원에 대한 나노물 또는 심지어 피코물 친화성을 갖는다. 친화성 성숙된 항체는 당해 분야에서 공지된 절차에 의해 생산된다. 가령, Marks et al., *Bio/Technology* 10:779-783 (1992)은 V_H - 및 V_L -도메인 뒤섞임에 의한 친화성 성숙을 설명한다. HVR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은 예로서, Barbas et al. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Schier et al. *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton et al. *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); 및

Hawkins *et al.*, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992)에 의해 설명된다.

- [0108] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "특이적으로 결합한다", "특이적으로 인식한다" 또는 "특이적이다"는 계측가능하고 재현가능한 상호작용, 예를 들면, 표적 및 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb) 사이에 결합을 지칭하는데, 이것은 생물학적 분자를 비롯한 분자의 이질성 개체군의 존재에서 표적의 존재를 결정한다. 가령, 표적 (이것은 에피토프일 수 있다)에 특이적으로 결합하는 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)은 이것이 다른 표적에 결합하는 것보다 더욱 큰 친화성으로, 결합능으로, 더욱 쉽게 및/또는 더욱 큰 지속 기간에서 이러한 표적에 결합하는 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)이다. 일부 구체예에서, 관련 없는 표적에 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)의 결합의 정도는 예로서, 방사면역검정 (RIA)에 의해 계측될 때 표적에 대한 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)의 결합의 약 10%보다 적다. 일부 구체예에서, 표적에 특이적으로 결합하는 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)은 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 의 해리 상수 (Kd)를 갖는다. 일부 구체예에서, 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)은 상이한 종으로부터 단백질 사이에서 보존되는 단백질 상에 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 특이적 결합은 배타적 결합을 포함할 수 있지만, 이를 필요로 하지는 않는다.
- [0109] 용어 "특이성"은 항원의 특정 에피토프에 대한 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)의 선택적 인식을 지칭한다. 자연 항체는 예로서, 단일특이적이다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "다중특이적"은 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)이 2개 또는 그 이상의 항원 결합 부위를 갖고, 이들 중에서 최소한 2개가 상이한 항원에 또는 동일한 항원의 상이한 에피토프에 결합한다는 것을 표시한다. 본원에서 이용된 바와 같이, "이중특이적"은 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)이 2가지 상이한 항원 결합 특이성을 갖는다는 것을 표시한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "단일특이적" CAR은 하나 또는 그 이상의 결합 부위를 갖고, 이들 각각이 동일한 항원의 동일한 에피토프에 결합하는 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb)을 표시한다.
- [0110] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "가 (valent)"는 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb) 내에 특정된 숫자의 결합 부위의 존재를 표시한다. 예로서, 자연 항체 또는 전장 항체는 2개의 결합 부위를 갖고 이가이다. 따라서, 용어 "삼가", "사가", "오가" 및 "육가"는 항원 결합 단백질 (가령, CAR 또는 sdAb) 내에 각각, 2개의 결합 부위, 3개의 결합 부위, 4개의 결합 부위, 5개의 결합 부위 및 6개의 결합 부위의 존재를 표시한다.
- [0111] "항체 작동체 기능"은 항체의 Fc 영역 (선천적 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인한 생물학적 활성을 지칭하고, 그리고 항체 아이소타입에 따라 변한다. 항체 작동체 기능의 실례는 다음을 포함한다: C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 (ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체 (가령, B 세포 수용체)의 하향조절; 그리고 B 세포 활성화. "감소된 또는 최소화된" 항체 작동체 기능은 이것이 야생형 또는 변형되지 않은 항체로부터 최소한 50% (대안으로 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) 감소된다는 것을 의미한다. 항체 작동체 기능의 결정은 당업자에 의해 쉽게 결정가능하고 계측가능하다. 바람직한 구체예에서, 보체 결합, 보체 의존성 세포독성 및 항체 의존성 세포독성의 항체 작동체 기능이 영향을 받는다. 일부 구체예에서, 작동체 기능은 당화를 제거하는 불변 영역에서 돌연변이, 예를 들면, "작동체-없는 돌연변이"를 통해 제거된다. 한 양상에서, 작동체-없는 돌연변이는 C_H2 영역에서 N297A 또는 DANA 돌연변이 (D265A+N297A)이다. Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 276 (9): 6591-6604 (2001). 대안으로, 감소된 또는 제거된 작동체 기능을 유발하는 추가 돌연변이는 다음을 포함한다: K322A 및 L234A/L235A (LALA). 대안으로, 작동체 기능은 생산 기술, 예를 들면, 글리코실화되지 않거나 (가령, 대장균 (*E. coli*)), 또는 작동체 기능을 증진하는데 무효하거나 또는 덜 효과적인 변경된 글리코실화 패턴을 유발하는 숙주 세포에서 발현을 통해 감소되거나 또는 제거될 수 있다 (가령, Shinkawa *et al.*, *J. Biol. Chem.* 278(5): 3466-3473 (2003)).
- [0112] "항체 의존성 세포 매개된 세포독성" 또는 ADCC는 일정한 세포독성 세포 (가령, 자연 킬러 (NK) 세포, 호중구 및 대식세포) 상에 존재하는 Fc 수용체 (FcRs) 위에 결합된 분비된 Ig가 이들 세포독성 작동체 세포가 항원-보유 표적 세포에 특이적으로 결합하고, 그리고 차후에, 표적 세포를 세포독소로 사멸시킬 수 있게 하는 세포독성의 한 형태를 지칭한다. 이들 항체는 세포독성 세포를 "무장시키고", 그리고 이러한 기전에 의한 표적 세포의 사멸을 위해 절대적으로 필요하다. ADCC를 매개하기 위한 일차 세포, NK 세포는 단지 Fc γ R1II만을 발현하고, 반면 단핵구는 Fc γ R1, Fc γ R2 및 Fc γ R3을 발현한다. 조혈 세포 상에서 Fc 발현은 Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-92 (1991)의 464 페이지 상에 표 3에서 요약된다. 관심되는 분자의 ADCC 활성을 사정하기 위해, 시험관내 ADCC 검정, 예를 들면, US 특허 번호 5,500,362 또는 5,821,337에서 설명된 것이 수행될 수 있다. 이런 검정을 위한 유용한 작동체 세포는 말초혈 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함

한다. 대안으로, 또는 부가적으로, 관심되는 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들면, 동물 모형, 예를 들면, Clynes *et al.*, *PNAS USA* 95:652-656 (1998)에서 개시된 것에서 사정될 수 있다.

[0113] 용어 "Fc 영역"은 선천적-서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 비롯하여, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 규정하는데 이용된다. 비록 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계가 변할 수도 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 위치 Cys226에서 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230으로부터 이들의 카르복실 말단까지 뻗어 있는 것으로 통상적으로 규정된다. Fc 영역의 C 말단 리신 (EU 넘버링 시스템에 따라 잔기 447)은 예로서, 항체의 생산 또는 정제 동안, 또는 항체의 중쇄를 인코딩하는 핵산을 재조합적으로 가공함으로써 제거될 수 있다. 따라서, 무손상 항체의 조성물은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 개체군, K447 잔기가 제거되지 않은 항체 개체군, 그리고 K447 잔기가 있고 없는 항체의 혼합물을 갖는 항체 개체군을 포함할 수 있다. 본원에서 설명된 항체에서 이용을 위한 적합한 선천적-서열 Fc 영역은 인간 IgG1, IgG2 (IgG2A, IgG2B), IgG3 및 IgG4를 포함한다.

[0114] "결합 친화성"은 일반적으로, 분자 (가령, 항체 또는 CAR)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 상대 (가령, 항원) 사이에 비공유 상호작용의 총계의 강도를 지칭한다. 달리 지시되지 않으면, 본원에서 이용된 바와 같이, "결합 친화성"은 결합 쌍의 구성원 (가령, 항체와 항원, 또는 CAR과 항원) 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화성을 지칭한다. 상대 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로, 해리 상수 (Kd)에 의해 표현될 수 있다. 친화성은 본원에서 설명된 것들을 비롯한 당해 분야에서 공지된 통상적인 방법에 의해 측정될 수 있다. 낮은 친화성 항체는 일반적으로, 항원에 천천히 결합하고 쉽게 해리하는 경향이 있고, 반면 높은 친화성 항체는 일반적으로, 항원에 더욱 빨리 결합하고 더욱 길게 결합된 상태로 남아있는 경향이 있다. 결합 친화성을 측정하는 다양한 방법이 당해 분야에서 공지되는데, 이들 중에서 한 가지가 본 출원을 위해 이용될 수 있다. 결합 친화성을 측정하기 위한 특정한 예시적이고 전형적인 구체예는 다음에서 설명된다.

[0115] "차단" 항체 또는 "길항제" 항체는 자신이 결합하는 항원의 생물학적 활성을 저해하거나 또는 감소시키는 항체이다. 일부 구체예에서, 차단 항체 또는 길항제 항체는 항원의 생물학적 활성을 실제로 또는 완전하게 저해한다.

[0116] "효현제" 또는 활성화 항체는 자신이 결합하는 항원에 의한 신호전달을 증강하거나 또는 개시하는 항체이다. 일부 구체예에서, 효현제 항체는 자연 리간드의 존재 없이 신호전달을 유발하거나 또는 활성화시킨다.

[0117] 펩티드, 폴리펩티드 또는 항체 서열에 대하여 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성" 및 "상동성"은 최고 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 필요하면, 갭을 도입한 후에, 그리고 임의의 보존성 치환을 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않고, 특정한 펩티드 또는 폴리펩티드 서열 내에 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열 내에 아미노산 잔기의 백분율로서 규정된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적을 위한 정렬은 당해 분야의 기술 범위 안에 있는 다양한 방식으로, 예를 들면, 공개적으로 가용한 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들면, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 MEGALIGN™ (DNASTAR) 소프트웨어를 이용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여, 정렬을 측정하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0118] 본원에서 이용된 바와 같이, "키메라 항원 수용체" 또는 "CAR"은 유전적으로 가공된 수용체를 지칭하는데, 이것은 하나 또는 그 이상의 항원 특이성을 면역 작동체 세포, 예를 들면, T 세포 위에 합체시키는데 이용될 수 있다. 일부 CARs는 "인공 T 세포 수용체", "키메라 T 세포 수용체" 또는 "키메라 면역 수용체"로서 또한 알려져 있다. 일부 구체예에서, CAR은 하나 또는 그 이상의 항원 (가령, 종양 항원)에 특정한 세포의 항원 결합 도메인, 막경유 도메인, 그리고 T 세포 및/또는 다른 수용체의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. "CAR-T"는 CAR을 발현하는 T 세포를 지칭한다.

[0119] 본원에서 설명된 CAR 또는 sdAb를 인코딩하는 "단리된" 핵산 분자는 이것이 생산되었던 환경에서 이것이 통상적으로 연관되는 최소한 하나의 오염체 핵산 분자로부터 확인되고 분리된 핵산 분자이다. 바람직하게는, 단리된 핵산은 생산 환경과 연관된 모든 다른 성분과의 연관이 없다. 본원에서 폴리펩티드 및 항체를 인코딩하는 단리된 핵산 분자는 이것이 자연에서 발견되는 형태 또는 세팅 이외의 형태이다. 단리된 핵산 분자는 이런 이유로, 세포에서 자연적으로 존재하는 본원에서 폴리펩티드 및 항체를 인코딩하는 핵산과 구별된다.

[0120] 용어 "제어 서열"은 특정 숙주 생명체에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현을 위해 필요한 DNA 서열을 지칭한다. 원핵생물에 적합한 제어 서열은 예로서, 프로모터, 임의선택적으로 오퍼레이터 서열, 그리고 리보솜 결합 부위를 포함한다. 진핵 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호, 그리고 인핸서를 활용하는 것으로 알려져 있다.

- [0121] 핵산은 다른 핵산 서열과 기능적 관계에서 배치될 때 "작동가능하게 연결된다". 가령, 프리서열 또는 분비성 리더에 대한 DNA가 폴리펩티드의 분비에 참여하는 전구단백질로서 발현되면, 이것은 폴리펩티드에 대한 DNA에 작동가능하게 연결된다; 프로모터 또는 인핸서가 서열의 전사에 영향을 주면, 이것은 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다; 또는 리보솜 결합 부위가 번역을 용이하게 하기 위해 배치되면, 이것은 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 일반적으로, "작동가능하게 연결된다"는 연결되는 DNA 서열이 인접하고, 그리고 분비성 리더의 경우에, 인접하고 해독 시기에 있다는 것을 의미한다. 하지만, 인핸서는 인접할 필요가 없다. 연결은 편의한 제한 부위에서 결합에 의해 달성된다. 만약 이런 부위가 존재하지 않으면, 합성 올리고뉴클레오타이드 어댑터 또는 링커가 전통적인 관례에 따라서 이용된다.
- [0122] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "벡터"는 자신이 연관되는 다른 핵산을 증식할 수 있는 핵산 분자를 포함한다. 상기 용어는 자가-복제 핵산 구조로서 벡터뿐만 아니라 이것이 도입된 숙주 세포의 게놈 내로 함입된 벡터를 포함한다. 일정한 벡터는 그들이 작동가능하게 연결되는 핵산의 발현을 주도할 수 있다. 이런 벡터는 본원에서 "발현 벡터"로서 지칭된다.
- [0123] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "자가"는 추후에 개체 내로 재도입되는, 동일한 개체로부터 유래된 임의의 물질을 지칭하는 것으로 의미된다.
- [0124] "동종이계"는 동일한 종의 상이한 개체로부터 유래된 이식편을 지칭한다.
- [0125] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"은 외인성 핵산이 숙주 세포 내로 이전되거나 또는 도입되는 과정을 지칭한다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 세포는 외인성 핵산으로 형질감염된, 형질전환된 또는 형질도입된 것이다. 세포는 일차 개체 세포 및 이의 자손을 포함한다.
- [0126] 본원에서 이용된 바와 같이, 표현 "세포", "세포주" 및 "세포 배양액"은 교체가가능하게 이용되고, 그리고 이와 같은 모든 지정은 자손을 포함한다. 따라서, 단어 "형질감염체" 및 "형질감염된 세포"는 이전의 횟수에 상관없이, 일차 개체 세포 및 이로부터 유래된 배양액을 포함한다. 모든 자손은 축증성 또는 우연한 돌연변이로 인해, DNA 함량에서 정확하게 동일하지 않을 수도 있는 것으로 또한 이해된다. 최초 형질전환된 세포에서 선별검사된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 변이체 자손이 포함된다.
- [0127] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양액"은 교체가가능하게 이용되고, 그리고 세포의 자손을 비롯하여, 외인성 핵산이 도입된 세포를 지칭한다. 숙주 세포에는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"가 포함되는데, 이들은 계대 (passage)의 횟수에 상관없이, 일차 형질전환된 세포 및 이로부터 유래된 자손을 포함한다. 자손은 핵산 함량에서 부모 세포와 완전히 동일하지 않고, 돌연변이를 내포할 수도 있다. 최초 형질전환된 세포에서 선별검사되거나 또는 선별된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손은 여기에 포함된다.
- [0128] 본원에서 이용된 바와 같이, "치료" 또는 "치료하는"는 임상적 결과를 비롯한 유익한 또는 원하는 결과를 획득하기 위한 접근법이다. 본 발명을 위해, 유익한 또는 원하는 임상적 결과는 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: 질환으로부터 발생하는 하나 또는 그 이상의 증상을 경감하고, 질환의 정도를 축소하고, 질환을 안정시키고 (가령, 질환을 예방하거나 또는 질환의 악화를 지연시키는), 질환의 확산 (가령, 전이)를 예방하거나 또는 지연시키고, 질환의 재발을 예방하거나 또는 지연시키고, 질환의 진행을 지연시키거나 또는 늦추고, 질환 상태를 개선하고, 질환의 관해 (부분적인 또는 전체)를 제공하고, 질환을 치료하는데 필요한 하나 또는 그 이상의 다른 약제의 용량을 감소시키고, 질환의 진행을 지연시키고, 삶의 질을 증가시키고 및/또는 생존을 연장한다. 암의 병리학적 결과의 감소 역시 "치료"에 의해 포괄된다. 본 출원의 방법은 치료의 이들 양상 중에서 임의의 한 가지 또는 그 이상을 예기한다.
- [0129] 본원에서 이용된 바와 같이, "개체" 또는 "피험자"는 인간, 소, 말, 고양이, 개, 설치류 또는 영장류를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 포유동물을 지칭한다. 일부 구체예에서, 개체는 인간이다.
- [0130] 본원에서 이용된 용어 "효과량"은 특정된 장애, 상태 또는 질환을 치료하는데, 예를 들면, 이의 증상 중에서 하나 또는 그 이상을 개선하고, 완화시키고, 줄이고 및/또는 지연시키는데 충분한 작용제, 예를 들면, 단일-도메인 항체, 가공된 면역 작동체 세포, 또는 이들의 제약학적 조성물의 양을 지칭한다. 암에 관하여, 효과량은 종양이 수축하도록 유발하고 및/또는 종양의 성장률을 감소시키거나 (가령, 종양 성장을 억제하거나) 또는 다른 원치 않는 세포 증식을 예방하거나 또는 지연시키는데 충분한 양을 포함한다. 일부 구체예에서, 효과량은 발달을 지연시키는데 충분한 양이다. 일부 구체예에서, 효과량은 재발을 예방하거나 또는 지연시키는데 충분한 양이

다. 효과량은 1회 또는 그 이상의 투여에서 투여될 수 있다. 약물 또는 조성물의 효과량은 (i) 암 세포의 숫자를 감소시키고; (ii) 종양 크기를 감소시키고; (iii) 말초 장기 내로 암 세포 침윤을 저해하고, 지연시키고, 얼마간 늦추고, 그리고 바람직하게는 중단시키고; (iv) 종양 전이를 저해하고 (즉, 얼마간 늦추고, 바람직하게는 중단시키고); (v) 종양 성장을 저해하고; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 예방하거나 또는 지연시키고; 및/또는 (vii) 암과 연관된 증상 중에서 하나 또는 그 이상을 얼마간 완화시킬 수 있다.

[0131] "어췌버트 세팅"은 개체가 암의 병력을 갖고, 그리고 일반적으로 (반드시 그러한 것은 아니지만), 수술 (가령, 수술 적출), 방사선 요법 및 화학요법을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 요법에 반응성인 임상적 세팅을 지칭한다. 하지만, 암의 병력 때문에, 이들 개체는 질환의 발달의 위험에 처해있는 것으로 고려된다. "어췌버트 세팅"에서 치료 또는 투여는 치료의 차후 방식을 지칭한다. 위험의 정도 (가령, 어췌버트 세팅에서 개체가 "높은 위험" 또는 "낮은 위험"인 것으로 고려될 때)는 여러 인자, 가장 통상적으로는 처음 치료될 때 질환의 정도에 의존한다.

[0132] "네오어췌버트 세팅"은 상기 방법이 일차/결정적 요법 전에 실행되는 임상적 세팅을 지칭한다.

[0133] 본원에서 이용된 바와 같이, 암의 발달을 "지연시키는" 것은 상기 질환의 발달을 미루고, 방해하고, 늦추고, 지연시키고, 안정시키고 및/또는 늦추는 것을 의미한다. 이러한 지연은 질환의 병력 및/또는 치료되는 개체에 따라, 기간이 변할 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 유의미한 지연은 실제로, 개체에서 질환이 발달하지 않는다는 점에서, 예방을 포괄할 수 있다. 암의 발달을 "지연" 시키는 방법은 이러한 방법을 이용하지 않는 것과 비교할 때, 소정의 시간 프레임에서 상기 질환이 발달하는 확률을 감소시키고 및/또는 소정의 시간 프레임에서 상기 질환의 정도를 감소시키는 방법이다. 이런 비교는 전형적으로, 통계학적으로 유의한 숫자의 개체를 이용한 임상 연구에 근거된다. 암 발달은 전산화 축 단층촬영술 (CAT Scan), 자기 공명 영상법 (MRI), 복부 초음파, 응고 시험, 동맥조영술, 또는 생검을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 표준 방법을 이용하여 검출가능할 수 있다. 발달은 또한, 초기에 검출할 수 없고, 그리고 발생, 재발 및 개시를 포함하는 암 진행을 지칭할 수 있다.

[0134] 용어 "제약학적 제제"는 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이라도 허용하고, 그리고 이러한 제제가 투여될 개체에 받아들이기 어려울 정도로 독성인 추가 성분을 내포하지 않는 형태의 제조물을 지칭한다. 이런 제제는 무균이다. "무균" 제제는 무균이거나 또는 모든 살아있는 미생물 및 그들의 포자가 없다.

[0135] 본원에서 이용된 바와 같이, "담체"는 이용된 용량 및 농도에서 거기에 노출되는 세포 또는 포유동물에 비독성인 제약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정제를 포함한다. 종종, 생리학적으로 허용되는 담체는 수성 pH 완충된 용액이다. 생리학적으로 허용되는 담체의 실례는 완충액, 예를 들면, 인산염, 구연산염 및 다른 유기산; 아스코르빈산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (가령, 옥타데실디메틸벤질 염화암모늄; 헥사메토늄 염화물; 벤잘코늄 염화물, 벤제토늄 염화물; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예를 들면, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 그리고 m-크레졸); 저분자량 (약 10개보다 적은 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예를 들면, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예를 들면, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예를 들면, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 당류, 이당류, 그리고 글루코오스, 만노오스 또는 덱스트린을 비롯한 다른 탄수화물; 킬레이트화제, 예를 들면, EDTA; 당, 예를 들면, 수크로오스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대 이온, 예를 들면, 나트륨; 금속 착물 (가령, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예를 들면, TWEEN™, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 그리고 PLURONICS™ 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다.

[0136] 본원에서 관심되는 "희석제"는 제약학적으로 허용되고 (인간에 투여하기 안전하고 비독성인), 그리고 액체 제제, 예를 들면, 동결건조 후 재구성되는 제제의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 희석제는 무균수, 정균성 주사용수 (BWFI), pH 완충된 용액 (가령, 인산염 완충된 식염수), 무균 식염수, 링거액 또는 덱스트로스 용액을 포함한다. 대안적 구체예에서, 희석제는 염 및/또는 완충액의 수성 용액을 포함할 수 있다.

[0137] "보존제"는 세균 활성을 감소시키기 위해 본원에서 제제에 첨가될 수 있는 화합물이다. 보존제의 첨가는 예로서, 복수 이용 (복수 투약) 제제의 생산을 용이하게 할 수 있다. 잠재적 보존제의 실례는 옥타데실디메틸벤질 염화암모늄, 헥사메토늄 염화물, 벤잘코늄 염화물 (알킬벤질디메틸암모늄 염화물의 혼합물, 여기서 알킬 기는 긴 사슬 화합물이다) 및 벤제토늄 염화물을 포함한다. 다른 유형의 보존제는 방향족 알코올, 예를 들면, 페놀, 부틸 및 벤질 알코올, 알킬 파라벤, 예를 들면, 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레소르시놀, 시클로헥산올, 3-펜탄올, 그리고 m-크레졸을 포함한다. 본원에서 가장 바람직한 보존제는 벤질 알코올이다.

- [0138] "안정된" 제제는 그 안에 단백질이 보관 시에 이의 물리적 및 화학적 안정성 및 완전성을 본질적으로 유지하는 것이다. 단백질 안정성을 예측하기 위한 다양한 분석 기법이 당해 분야에서 가용하고, 그리고 *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) 및 Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993)에서 리뷰된다. 안정성은 선별된 기간 동안 선별된 온도에서 예측될 수 있다. 신속한 선별검사를 위해, 제제는 시간 안정성이 예측되는 2 주 내지 1 개월 동안 40℃에서 유지될 수 있다. 제제가 2-8℃에서 보관되는 경우에, 일반적으로 제제는 30℃ 또는 40℃에서 최소한 1 개월 동안 안정되고 및/또는 2-8℃에서 최소한 2 년 동안 안정되어야 한다. 제제가 30℃에서 보관되는 경우에, 일반적으로 제제는 30℃에서 최소한 2 년 동안 안정되고 및/또는 40℃에서 최소한 6 개월 동안 안정되어야 한다. 가령, 보관 동안 응집의 정도는 단백질 안정성의 지표로서 이용될 수 있다. 따라서, "안정된" 제제는 약 10%보다 적은 및 바람직하게는, 약 5%보다 적은 단백질이 제제에서 응집체로서 존재하는 것일 수 있다. 다른 구체예에서, 제제의 보관 동안 응집체 형성에서 임의의 증가가 결정될 수 있다.
- [0139] "재구성된" 제제는 단백질이 전역에서 분산되도록, 동결건조된 단백질 또는 항체 제제를 회석제에서 용해시킴으로써 제조된 것이다. 재구성된 제제는 관심되는 단백질로 치료되는 환자에 투여 (가령, 피하 투여)에 적합하고, 그리고 본 출원의 일부 구체예에서, 비경구 또는 정맥내 투여에 적합한 것일 수 있다.
- [0140] "등장성" 제제는 인간 혈액과 본질적으로 동일한 삼투압을 갖는 것이다. 등장성 제제는 일반적으로, 약 250 내지 350 mOsm의 삼투압을 가질 것이다. 용어 "저장성"은 인간 혈액의 것보다 낮은 삼투압을 갖는 제제를 설명한다. 상응하게, 용어 "고장성"은 인간 혈액의 것보다 높은 삼투압을 갖는 제제를 설명하는데 이용된다. 등장성은 예로서, 증기압 또는 결빙 유형 삼투압계를 이용하여 예측될 수 있다. 본 발명의 제제는 염 및/또는 완충액의 첨가의 결과로서 고장성이다.
- [0141] 본원에서 설명된 본 출원의 구체예는 "구성되는" 및/또는 "본질적으로 구성되는" 구체예를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0142] 본원에서 값 또는 파라미터에서 "약"에 대한 언급은 그 자체로 상기 값 또는 파라미터에 관계하는 변이를 포함한다 (및 설명한다). 가령, "약 X"를 지칭하는 설명은 "X"의 설명을 포함한다.
- [0143] 본원에서 이용된 바와 같이, 값 또는 파라미터에서 "아님"에 대한 언급은 일반적으로, 값 또는 파라미터 "이외"를 의미하고 설명한다. 가령, 상기 방법이 유형 X의 암을 치료하는데 이용되지 않는다는 것은 상기 방법이 X 이외에 유형의 암을 치료하는데 이용된다는 것을 의미한다.
- [0144] 본원에서 이용된 용어 "약 X-Y"는 "약 X 내지 약 Y"와 동일한 의미를 갖는다.
- [0145] 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 이용된 바와 같이, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 달리 지시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함한다.
- [0146] **II. 단일-도메인 항체**
- [0147] 한 양상에서 본 출원은 단일-도메인 항체, 이들의 항원 결합 단편, 그리고 이들 단일-도메인 항체 중에서 한 가지를 포함하는 항원 결합 단백질을 제공한다. 예시적인 단일-도메인 항체는 아래의 표 2에서 열거된다.
- [0148] **표 2. 예시적인 단일-도메인 항체.**

표 2

[0149]

Ab	실례 AA 서 열 번 호	실례 NA 서 열 번 호	CDR1	CDR2	CDR3
예시적인 항-CD19 단일-도메인 항체					
CD19 V _H H	76	101	INRMG (서열 번호: 1)	SITVRGITYADSVKG (서열 번호: 2)	VSSNRDPDY (서열 번호: 3)
예시적인 항-CD20 단일-도메인 항체					
CD20 V _H H	77	102	IGTMG (서열 번호: 4)	AIRWSTGGTRYADSVKG (서열 번호: 5)	DRLSLDLSGRYHYNPAVDY (서열 번호: 6)
예시적인 항-BCMA 단일-도메인 항체					
269A37 346	78	103	SGFTLDYYAIG (서열 번호: 7)	CISRSDBGSTYYADSVKG (서열 번호: 18)	AGADCSGYLRDYEYF (서열 번호: 29)

269A37 348	79	104	SGRTFSTYGMA (서열 번호: 8)	SKASMNYSGRYYADSVKG (서열 번호: 19)	AGTGCSTYGCFDAQIIDY (서열 번호: 30)
269A37 917	80	105	SGRTFTMG (서열 번호: 9)	AI SLSP TLAYAESVKG (서열 번호: 20)	ADRSVMSIRPDY (서열 번호: 31)
269A37 355	81	106	SGGIFVINAMG (서열 번호: 10)	SIRGLGRTNYDDSVKG (서열 번호: 21)	VYVTLGGVNRDY (서열 번호: 32)
269A37 915	82	107	SGRTFSSIVMG (서열 번호: 11)	AIMWNDGITYLQDSVKG (서열 번호: 22)	ASKGRYSEY EY (서열 번호: 33)
269A37 936	83	108	SGFTFDRAVIV (서열 번호: 12)	FIKPSDGTIYYIDSLKG (서열 번호: 23)	ASPEDWYTDWIDWSIYR (서열 번호: 34)
269A37 953	84	109	STYTVNSDVMG (서열 번호: 13)	AIMWNDGITYLQDSVKG (서열 번호: 24)	ASKGRYSEY EY (서열 번호: 35)
269A37 965	85	110	SGATLTNDHMA (서열 번호: 14)	AIDWSGRTTNYADPVEG (서열 번호: 25)	VLRAWISYDNDY (서열 번호: 36)
269A37 972	86	111	SGGTL SKNTVA (서열 번호: 15)	SITWDGRTYYADSVKG (서열 번호: 26)	DLGKWPAGPADY (서열 번호: 37)
269A37 353	87	112	SEHTFSSHVMG (서열 번호: 16)	VIGWRDISTSYADSVKG (서열 번호: 27)	ARRIDAADFDS (서열 번호: 38)
269A37 948	88	113	SGRAFSTYFMA (서열 번호: 17)	GIAWSSGGSTAYADSVKG (서열 번호: 28)	SRGIEVEEFGA (서열 번호: 39)
예시적인 항-CD38 단일-도메인 항체					
38A373 33	89	114	SGLTFSSYPMM (서열 번호: 40)	RISDSGGYTNYYDDSVKG (서열 번호: 52)	ILGLPT (서열 번호: 64)
38A373 36	90	115	SGFTFSSNWMY (서열 번호: 41)	TISTDGRGTYKDSVKG (서열 번호: 53)	KEPRVLMAYLRNLGDFGS (서열 번호: 65)
38A376 99	91	116	SGRIFSINAMG (서열 번호: 42)	AISTAGSTNYGDSVKG (서열 번호: 54)	LNFPYPVY (서열 번호: 66)
38A373 31	92	117	SGSIFKVFRVFAMS (서열 번호: 43)	SISSGETTYADSVKG (서열 번호: 55)	ADHTFTGDF (서열 번호: 67)
38A377 17	93	118	TGKVFSIYDMG (서열 번호: 44)	EITSSGTTHYDDFVSG (서열 번호: 56)	NHVFGGSY (서열 번호: 68)
38A377 19	94	119	SASIFTRLPMG (서열 번호: 45)	GIVPSGRINYADSVKG (서열 번호: 57)	ADTFPLPT (서열 번호: 69)
38A373 30	95	120	SGRAYATMA (서열 번호: 46)	HLRVSGDTTYTDSVKG (서열 번호: 58)	GPYGILAAARVSNPGNYDY (서열 번호: 70)
38A373 34	96	121	SGLTFSSYIMG (서열 번호: 47)	EISSGGMTSYADSVKG (서열 번호: 59)	APERGSIWYSRYEYKY (서열 번호: 71)
38A377 30	97	122	SQGIFTINAMG (서열 번호: 48)	EVSSGGRTDYADSVKG (서열 번호: 60)	VSGWHVFGDRIV (서열 번호: 72)
38A373 40	98	123	SGRTFSSYAMA (서열 번호: 49)	SISTSGGITDYADSVKG (서열 번호: 61)	ARTWYLRTSLQYDY (서열 번호: 73)
38A377 31	99	124	SGTIVSISTMG (서열 번호: 50)	TITRRGRNTYTDVKG (서열 번호: 62)	AEVQLDIWASAYDY (서열 번호: 74)
38A373 26	100	125	SGRTYAMG (서열 번호: 51)	TISGAGNTKYADSVKG (서열 번호: 63)	AGKWFPAANEY (서열 번호: 75)

[0150] 항-CD19 단일-도메인 항체 한 양상에서, 본 출원은 CD19, 예를 들면, 인간 CD19에 특이적으로 결합하는 단리된 단일-도메인 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 CD19 활성을 조정한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 길항제 항체이다.

[0151] 일부 구체예에서, 서열 번호: 76의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

- [0152] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3에서 선택되는 최소한 1개, 최소한 2개, 또는 3개 CDRs 모두를 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0153] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR1; (b) 서열 번호: 2의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 3의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체는 CD19에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체는 친화성 성숙된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0154] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0155] 일부 구체예에서, 서열 번호: 76의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 V_H 도메인을 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중에서 한 가지를 갖는 V_H 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체는 CD19에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 76의 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDRs 외측의 영역에서 (다시 말하면, FRs에서) 발생한다. 임의선택적으로, 항-CD19 단일-도메인 항체는 번역후 변형을 포함하는, 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0156] 일부 구체예에서, 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.
- [0157] 일부 구체예에서, 기능적 에피토프는 조합 알려진 스캐닝에 의해 지도화될 수 있다. 이러한 과정에서, 조합 알려진-스캐닝 전략은 항-CD19 단일-도메인 항체와의 상호작용에 필요한, CD19 단백질 내에 아미노산을 확인하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 입체형태적이고, 그리고 CD19에 결합된 항-CD19 단일-도메인 항체의 결정 구조가 에피토프를 확인하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 제공된 항-CD19 단일-도메인 항체 중에서 한 가지와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 가령, 일부 구체예에서, 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.
- [0158] 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 설명된 항-CD19 단일-도메인 항체 중에서 한 가지와 경쟁적으로 CD19에 특이적으로 결합하는 항-CD19 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 일부 구체예에서, 경쟁적 결합은 ELISA 검정을 이용하여 결정될 수 있다. 가령, 일부 구체예에서, 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 항

-CD19 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD19에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다.

- [0159] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-CD19 단일-도메인 항체 중에서 한 가지를 포함하는 항-CD19 항체 또는 항원 결합 단백질이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체는 낙타, 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 비롯한 단일클론 항체이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체는 항체 단편, 예를 들면, V_H 단편이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체는 임의의 항체 부류 또는 아이소타입, 예를 들면, IgG1 또는 IgG4의 Fc 영역을 포함하는 전장 중쇄 단독 항체이다. 일부 구체예에서, Fc 영역은 감소되거나 또는 최소화된 작동체 기능을 갖는다.
- [0160] 일부 구체예에서, 상기 구체예 중에서 한 가지에 따른 항-CD19 항체 (가령, 항-CD19 단일-도메인 항체) 또는 항원 결합 단백질은 아래의 "항체의 특질"의 섹션 1-7에서 설명된 바와 같이, 임의의 특질을 단독적으로 또는 합동으로 통합할 수 있다.
- [0161] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-CD19 항체 (가령, 항-CD19 단일-도메인 항체) 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일-도메인 항체를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공되고, 여기서 상기 핵산은 서열 번호: 101의 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 101의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 이런 핵산을 포함하는 벡터 (가령, 발현 벡터)가 제공된다. 일부 구체예에서, 이런 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체를 만드는 방법이 제공되고, 여기서 상기 방법은 상기에 제시된 바와 같이, 항-CD19 항체를 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항-CD19 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하고, 그리고 임의선택적으로, 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항-CD19 항체를 회수하는 것을 포함한다.
- [0162] **항-CD20 단일-도메인 항체**
- [0163] 한 양상에서, 본 출원은 CD20, 예를 들면, 인간 CD20에 특이적으로 결합하는 단리된 단일-도메인 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 CD20 활성을 조정한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 길항제 항체이다.
- [0164] 일부 구체예에서, 서열 번호: 77의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD20 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0165] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3에서 선택되는 최소한 1개, 최소한 2개, 또는 3개 CDRs 모두를 포함하는 항-CD20 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0166] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 4의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR1; (b) 서열 번호: 5의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 6의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-CD20 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CD20 단일-도메인 항체는 CD20에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 친화성 성숙된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0167] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-CD20

단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0168] 일부 구체예에서, 서열 번호: 77의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 V_HH 도메인을 포함하는 항-CD20 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중에서 한 가지를 갖는 V_HH 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CD20 단일-도메인 항체는 CD20에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 77의 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDRs 외측의 영역에서 (다시 말하면, FRs에서) 발생한다. 임의선택적으로, 항-CD20 단일-도메인 항체는 번역후 변형을 포함하는, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함한다.

[0169] 일부 구체예에서, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 갖는 V_HH 도메인을 포함하는 단리된 항-CD20 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.

[0170] 일부 구체예에서, 기능적 에피토프는 조합 알라닌 스캐닝에 의해 지도화될 수 있다. 이러한 과정에서, 조합 알라닌-스캐닝 전략은 항-CD20 단일-도메인 항체와의 상호작용에 필요한, CD20 단백질 내에 아미노산을 확인하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 입체형태적이고, 그리고 CD20에 결합된 항-CD20 단일-도메인 항체의 결정 구조가 에피토프를 확인하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 제공된 항-CD20 단일-도메인 항체 중에서 한 가지와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 가령, 일부 구체예에서, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0171] 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 설명된 항-CD20 단일-도메인 항체 중에서 한 가지와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합하는 항-CD20 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 일부 구체예에서, 경쟁적 결합은 ELISA 검정을 이용하여 결정될 수 있다. 가령, 일부 구체예에서, 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD20 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD20에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다.

[0172] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-CD20 단일-도메인 항체 중에서 한 가지를 포함하는 항-CD20 항체 또는 항원 결합 단백질이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 낙타, 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 비롯한 단일클론 항체이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 항체 단편, 예를 들면, V_HH 단편이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 임의의 항체 부류 또는 아이소타입, 예를 들면, IgG1 또는 IgG4의 Fc 영역을 포함하는 전장 중쇄 단독 항체이다. 일부 구체예에서, Fc 영역은 감소되거나 또는 최소화된 작동체 기능을 갖는다.

[0173] 일부 구체예에서, 상기 구체예 중에서 한 가지에 따른 항-CD20 항체 (가령, 항-CD20 단일-도메인 항체) 또는 항원 결합 단백질은 아래의 "항체의 특징"의 섹션 1-7에서 설명된 바와 같이, 임의의 특징을 단독적으로 또는 합동으로 통합할 수 있다.

[0174] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-CD20 항체 (가령, 항-CD20 단일-도메인 항체) 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공되고, 여기서 상기 핵산은 서열 번호: 102의 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 102의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 이런 핵산을 포함하는 벡터 (가령, 발현 벡터)가 제공된다. 일부 구체예에서, 이런 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체를 만드는 방법이 제공되고, 여기서 상기 방법은 상기에 제시된 바와 같이, 항-CD20 항체를 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항-CD20 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하고, 그리고 임의선택적으로, 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항-CD20 항체를 회수하는 것을 포함한다.

[0175] **항-BCMA 단일-도메인 항체**

[0176] 한 양상에서, 본 출원은 BCMA, 예를 들면, 인간 BCMA에 특이적으로 결합하는 단리된 단일-도메인 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 BCMA 활성을 조정한다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 길항제 항체이다.

- [0177] CD269로서 또한 알려져 있는 B 세포 성숙 항원 (BCMA)은 종양 괴사 인자 수용체 상과, 다시 말하면, TNFRSF17의 구성원이다 (Thompson et al., J. Exp. Medicine, 192 (1):129-135, 2000). 인간 BCMA는 형질 세포 및 다발성 골수종 세포에서 거의 배타적으로 발현된다 (가령, Novak et al., Blood, 103(2): 689-694, 2004; Neri et al., Clinical Cancer Research, 73(19):5903-5909; Felix et al., Mol. Oncology, 9(7):1348-58, 2015를 참조한다). BCMA는 B-세포 활성화 인자 (BAFF) 및 증식 유도 리간드 (APRIL)에 결합할 수 있다 (가령, Mackay et al., 2003 및 Kalled et al., Immunological Review, 204: 43-54, 2005). BCMA는 다발성 골수종에 대한 면역치료적 작용제를 위한 적합한 종양 항원 표적일 수 있다. 높은 친화성의 항체는 BCMA 및 이의 선천적 리간드 BAFF와 APRIL 사이에 결합을 차단할 수 있다. 항-BCMA 단일-도메인 항체는 예로서, 종양 세포에 대한 세포독성 효과를 증강하기 위해, CAR-T 세포를 이용한 세포 면역요법과 합동으로 이용될 수 있다.
- [0178] 일부 구체예에서, 서열 번호: 78의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 79의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 80의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 81의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 82의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 83의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 84의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 85의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 86의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 87의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 88의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0179] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 7-17에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 18-28에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 29-39에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3에서 선택되는 최소한 1개, 최소한 2개, 또는 3개 CDRs 모두를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0180] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 7-17에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR1; (b) 서열 번호: 18-28에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 29-39에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체는 BCMA에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 항체는 친화성 성숙된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0181] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

- [illegible]

BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0192] 일부 구체예에서, 서열 번호: 78-88에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 V_H 도메인을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중에서 한 가지를 갖는 V_H 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체는 BCMA에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 78-88에서 선택되는 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDRs 외측의 영역에서 (다시 말하면, FRs에서) 발생한다. 임의선택적으로, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 번역후 변형을 포함하는, 서열 번호: 78-88에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0193] 일부 구체예에서, 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 88의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-BCMA 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.

[0194] 일부 구체예에서, 기능적 에피토프는 조합 알려진 스캐닝에 의해 지도화될 수 있다. 이러한 과정에서, 조합 알려진-스캐닝 전략은 항-BCMA 단일-도메인 항체와의 상호작용에 필요한, BCMA 단백질 내에 아미노산을 확인하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 입체형태적이고, 그리고 BCMA에 결합된 항-BCMA 단일-도메인 항체의 결정 구조가 에피토프를 확인하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 제공된 항-BCMA 단일-도메인 항체 중에서 한 가지와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 가령, 일부 구체예에서, 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동

일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0195] 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 설명된 항-BCMA 단일-도메인 항체 중에서 한 가지와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 일부 구체예에서, 경쟁적 결합은 ELISA 검정을 이용하여 결정될 수 있다. 가령, 일부 구체예에서, 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 83의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 85의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 86의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 88의 아미노산 서열을 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 BCMA에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다.

[0196] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-BCMA 단일-도메인 항체 중에서 한 가지를 포함하는 항-BCMA 항체 또는 항원 결합 단백질이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 항체는 낙타, 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 비롯한 단일클론 항체이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 항체는 항체 단편, 예를 들면, V_HH 단편이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 항체는 임의의 항체 부류 또는 아이소타입, 예를 들면, IgG1 또는 IgG4의 Fc 영역을 포함하는 전장 중쇄 단독 항체이다. 일부 구체예에서, Fc 영역은 감소되거나 또는 최소화된 작동체 기능을 갖는다.

[0197] 일부 구체예에서, 상기 구체예 중에서 한 가지에 따른 항-BCMA 항체 (가령, 항-BCMA 단일-도메인 항체) 또는 항원 결합 단백질은 아래의 "항체의 특질"의 섹션 1-7에서 설명된 바와 같이, 임의의 특질을 단독적으로 또는 합동으로 통합할 수 있다.

[0198] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-BCMA 항체 (가령, 항-BCMA 단일-도메인 항체) 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공되고, 여기서 상기 핵산은 서열 번호: 103-113으로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 103-113으로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 이런 핵산을 포함하는 벡터 (가령, 발현 벡터)가 제공된다. 일부 구체예에서, 이런 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 항체를 만드는 방법이 제공되고, 여기서 상기 방법은 상기에 제시된 바와 같이, 항-BCMA 항체를 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항-BCMA 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하고, 그리고 임의선택적으로, 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항-BCMA 항체를 회수하는 것을 포함한다.

[0199] **항-CD38 단일-도메인 항체**

[0200] 한 양상에서, 본 출원은 CD38, 예를 들면, 인간 CD38에 특이적으로 결합하는 단리된 단일-도메인 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 CD38 활성을 조정한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 길항제 항체이다.

- [0201] CD38은 세포 표면 수용체와 연관되고, 세포질 Ca^{2+} 플럭스를 조절하고, 그리고 림프 및 골수에서 신호전달을 매개하는 유형 II 막경유 당단백질이다 (Konopleva et al., J Immunol, 161:4702-8, 1998; Deaglio et al., Blood, 109:5390-8, 2007). 인간 CD38은 골수중 세포에서 고도로 및 균일하게 발현되고, 그리고 정상적인 림프와 골수 세포 상에서 및 비-조혈 기원의 일부 조직에서 상대적으로 낮은 수준에서 발현되는데, 이로 인해 이것은 골수종의 치료에서 잠재적 표적이 된다. (가령, Lin et al., Am J Clin Pathol, 2004, 121:482; H. M. Lokhorst et al., New Eng. J. Med., 2015, 373:13을 참조한다).
- [0202] 일부 구체예에서, 서열 번호: 89의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 90의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 91의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 92의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 93의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 94의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 95의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 96의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 97의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 98의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 99의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 100의 아미노산 서열의 1개, 2개, 또는 3개 CDRs 전부를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0203] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 40-51에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 52-63에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 64-75에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3에서 선택되는 최소한 1개, 최소한 2개, 또는 3개 CDRs 모두를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.
- [0204] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 40-51에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR1; (b) 서열 번호: 52-63에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 64-75에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중에서 한 가지를 갖는 CDR은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체는 CD38에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 항체는 친화성 성숙된다.
- [0205] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

- [illegible]

CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0216] 일부 구체예에서, (a) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 3개 CDRs를 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 낙타이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크를 포함한다.

[0217] 일부 구체예에서, 서열 번호: 89-100에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 V_H 도메인을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성 중에서 한 가지를 갖는 V_H 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체는 CD38에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 89-100에서 선택되는 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 CDRs 외측의 영역에서 (다시 말하면, FRs에서) 발생한다. 임의선택적으로, 항-CD38 단일-도메인 항체는 번역후 변형을 포함하는, 서열 번호: 89-100에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0218] 일부 구체예에서, 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 93의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 94의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 95의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 97의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 98의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 갖는 V_H 도메인을 포함하는 단리된 항-CD38 단일-도메인 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.

[0219] 일부 구체예에서, 기능적 에피토프는 조합 알라닌 스캐닝에 의해 지도화될 수 있다. 이러한 과정에서, 조합 알라닌-스캐닝 전략은 항-CD38 단일-도메인 항체와의 상호작용에 필요한, CD38 단백질 내에 아미노산을 확인하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 에피토프는 입체형태적이고, 그리고 CD38에 결합된 항-CD38 단일-도메인 항체의 결정 구조가 에피토프를 확인하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 제공된 항-

CD38 단일-도메인 항체 중에서 한 가지와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 가령, 일부 구체예에서, 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0220] 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 설명된 항-CD38 단일-도메인 항체 중에서 한 가지와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항-CD38 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 일부 구체예에서, 경쟁적 결합은 ELISA 검정을 이용하여 결정될 수 있다. 가령, 일부 구체예에서, 서열 번호: 89의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 90의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 91의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 92의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 94의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 95의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 96의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 97의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 98의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 99의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체와 경쟁적으로 CD38에 특이적으로 결합하는 항체가 제공된다.

[0221] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-CD38 단일-도메인 항체 중에서 한 가지를 포함하는 항-CD38 항체 또는 항원 결합 단백질이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 항체는 낙타, 키메라, 인간화 또는 인간 항체를 비롯한 단일클론 항체이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 항체는 항체 단편, 예를 들면, V_{HH} 단편이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 항체는 임의의 항체 부류 또는 아이소타입, 예를 들면, IgG1 또는 IgG4의 Fc 영역을 포함하는 전장 중쇄 단독 항체이다. 일부 구체예에서, Fc 영역은 감소되거나 또는 최소화된 작동체 기능을 갖는다.

[0222] 일부 구체예에서, 상기 구체예 중에서 한 가지에 따른 항-CD38 항체 (가령, 항-CD38 단일-도메인 항체) 또는 항원 결합 단백질은 아래의 "항체의 특질"의 섹션 1-7에서 설명된 바와 같이, 임의의 특질을 단독적으로 또는 합동으로 통합할 수 있다.

[0223] 일부 구체예에서, 앞서 설명된 항-CD38 항체 (가령, 항-CD38 단일-도메인 항체) 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 단일-도메인 항체를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공되고, 여기서 상기 핵산은 서열 번호: 114-125로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 114-125로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 이런 핵산을 포함하는 벡터 (가령, 발현 벡터)가 제공된다. 일부 구체예에서,

이런 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 항체를 만드는 방법이 제공되고, 여기서 상기 방법은 상기에 제시된 바와 같이, 항-CD38 항체를 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 항-CD38 항체의 발현에 적합한 조건 하에 배양하고, 그리고 임의선택적으로, 숙주 세포 (또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 항-CD38 항체를 회수하는 것을 포함한다.

[0224] **항체의 특징**

[0225] **1. 항체 친화성**

[0226] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0.1 \text{ nM}$, $\leq 0.01 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.001 \text{ nM}$ (가령, 10^{-8} M 또는 그 이하, 예를 들면, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M , 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M) 의 해리 상수 (K_d)를 갖는다.

[0227] 일부 구체예에서, K_d 는 다음의 검정에 의해 설명된 바와 같이, 관심되는 항체의 Fab 이형 또는 V_{H} 단편 및 이의 항원으로 수행된 방사성표지화된 항원 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다. 가령, 항원에 대한 Fabs의 용해 결합 친화성은 표지화되지 않은 항원의 적정 시리즈의 존재에서 Fab를 최소 농도의 (^{125}I)-표지된 항원과 평형시키고, 이후 결합된 항원을 항-Fab 항체-코팅된 평판으로 포획함으로써 측정된다 (가령, Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)을 참조한다). 검정을 위한 조건을 확립하기 위해, MICROTITER[®] 다중웰 평판 (Thermo Scientific)은 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6)에서 5 $\mu\text{g/mL}$ 의 포획 항-Fab 항체 (Cappel Labs)로 하룻밤 동안 코팅되고, 그리고 차후에, 실온 (거의 23°C)에서 2 내지 5 시간 동안 PBS에서 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 차단된다. 비흡착성 평판 (Nunc #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [^{125}I]-항원은 관심되는 Fab의 연속 희석액과 혼합된다 (가령, Presta et al., *Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997)에서 항-VEGF 항체, Fab-12의 사정과 일치). 관심되는 Fab는 이후, 하룻밤 동안 배양된다; 하지만, 배양은 평형이 도달되도록 담보하기 위해 더욱 긴 기간 (가령, 약 65 시간) 동안 계속될 수 있다. 그 후에, 혼합물은 실온에서 배양 (가령, 1 시간 동안)을 위해 포획 평판으로 이전된다. 용액은 이후, 제거되고, 그리고 평판은 PBS에서 0.1% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20[®])으로 8회 세척된다. 평판이 건조될 때, 150 μl /웰의 신틸란트 (MICROSCINT-20[™]; Packard)가 첨가되고, 그리고 평판은 TOPCOUNT[™] 감마 계수기 (Packard)에서 10 분 동안 계수된다. 최대 결합의 20% 이하 또는 이와 등가를 제공하는 각 Fab의 농도가 경쟁적 결합 분석에서 이용을 위해 선택된다.

[0228] 일부 구체예에서, K_d 는 ~ 10 반응 단위 (RU)에서 고정된 항원 CM5 칩으로 25°C에서 BIACORE[®]-2000 또는 BIACORE[®]-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)을 이용한 표면 플라스몬 공명 검정을 이용하여 측정된다. 간단히 말하면, 카르복시메틸화된 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, BIACORE, Inc.)은 공급업체의 사용설명서에 따라 *N*-에틸-*N*'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보다이미드 염산염 (EDC) 및 *N*-히드록시숙신이미드 (NHS)로 활성화된다. 항원은 거의 10 반응 단위 (RU)의 연계된 단백질을 달성하기 위해, 5 μl /분의 유속에서 주입 전에 10 mM 아세트산 나트륨, pH 4.8로 5 $\mu\text{g/mL}$ ($\sim 0.2 \mu\text{M}$)까지 희석된다. 항원의 주입 이후에, 반응하지 않은 기를 차단하기 위해 1 M 에탄올아민이 주입된다. 동역학 측정을 위해, 관심되는 항체의 Fab 또는 V_{H} 의 2-배 연속 희석액 (0.78 nM 내지 500 nM)이 거의 25 μl /분의 유속에서 25°C에서 0.05% 폴리소르베이트 20 (TWEEN-20[™]) 계면활성제 (PBST)를 포함하는 PBS에 주입된다. 연관률 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})은 연관 및 해리 센서그램을 동시에 적합시킴으로써 단순한 1 대 1 랭뮤어 결합 모형 (BIACORE[®] 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 이용하여 계산된다. 평형 해리 상수 (K_d)는 비율 $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 으로서 계산된다. 가령, Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999)을 참조한다. 온 레이트가 상기 표면 플라스몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 를 초과하면, 온 레이트는 분광계, 예를 들면, 정지-유동 구비된 분광광도계 (Aviv Instruments) 또는 교반 큐벳이 달린 8000-시리즈 SLM-AMINCO[™] 분광광도계 (ThermoSpectronic)에서 측정될 때 증가하는 농도의 항원의 존재에서 PBS, pH 7.2에서, 20 nM 항-항원 항체 (Fab 형태)의 25°C에서 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm; 방출 = 340 nm, 16 nm 대역)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 퀀칭 기술을 이용함으로써 결정될 수 있다.

[0229] **2. 항체 단편**

[0230] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 항체는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv 및

scFv 단편, V_HH , 그리고 아래에 설명된 다른 단편을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 항체 단편의 리뷰를 위해, Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)를 참조한다. ScFv 단편의 리뷰를 위해, 예로서 Pluckthün, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)를 참조한다; 또한, WO 93/16185; 및 U.S. 특허 번호 5,571,894와 5,587,458을 참조한다. 구제 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 $F(ab')_2$ 단편의 논의를 위해, U.S. 특허 번호 5,869,046을 참조한다.

[0231] 디아바디는 이가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 가령, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)을 참조한다. 트리아바디 및 테트라바디 역시 Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)에서 설명된다.

[0232] 항체 단편은 본원에서 설명된 바와 같이, 무손상 항체의 단백질을 소화뿐만 아니라 재조합 숙주 세포 (가령 대장균 (*E. coli*) 또는 파지)에 의한 생산을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있다.

[0233] 3. 키메라 및 인간화 항체

[0234] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 항체는 키메라 항체이다. 일정한 키메라 항체는 예로서, U.S. 특허 번호 4,816,567; 및 Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984))에서 설명된다. 한 가지 실례에서, 키메라 항체는 비인간 가변 영역 (가령, 낙타 종, 예를 들면, 라마로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 실례에서, 키메라 항체는 "클래스 전환된" 항체인데, 여기서 부류 또는 하위부류가 부모 항체의 것으로부터 변화되었다. 키메라 항체는 이들의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0235] 일부 구체예에서, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로, 비인간 항체는 부모 비인간 항체의 특이성 및 친화성을 유지하면서, 인간에 대한 면역원성을 감소시키기 위해 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 HVRs, 예를 들면, CDRs (또는 이들의 부분)가 비인간 항체로부터 유래되고, 그리고 FRs (또는 이들의 부분)가 인간 항체 서열로부터 유래되는 하나 또는 그 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 임의선택적으로, 인간 불변 영역 중에서 최소한 일부를 또한 포함할 것이다. 일부 구체예에서, 인간화 항체에서 일부 FR 잔기는 예로서, 항체 특이성 또는 친화성을 복원하거나 또는 향상시키기 위해, 비인간 항체 (가령, HVR 잔기가 유래되는 항체)로부터 상응하는 잔기로 치환된다.

[0236] 인간화 항체 및 이들을 만드는 방법은 예로서, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)에서 리뷰되고, 그리고 예로서, Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); US 특허 번호 5, 821,337, 7,527,791, 6,982,321 및 7,087,409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (SDR (a-CDR) 합체를 설명); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) ("표면치환"을 설명); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) ("FR 뒤섞음"을 설명); 그리고 Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) 및 Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (FR 뒤섞음에 대한 "보도된 선별" 접근법을 설명)에서 더욱 설명된다.

[0237] 인간화에 이용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 다음을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: "최고 적합" 방법을 이용하여 선별된 프레임워크 영역 (가령, Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)을 참조한다); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정 하위군의 인간 항체의 공통 서열로부터 유래된 프레임워크 영역 (가령, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)을 참조한다); 인간 성숙 (체성으로 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 생식계열 프레임워크 영역 (가령, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)을 참조한다); 및 선별검사 FR 라이브러리로부터 유래된 프레임워크 영역 (가령, Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)을 참조한다).

[0238] 일부 구체예에서, 단일-도메인 항체는 항원에 대한 도메인의 선천적 친화성을 축소하지 않으면서, 그리고 이중성 중에 대한 이의 면역원성을 감소시키면서 변형된다, 예를 들면, 인간화된다. 가령, 라마 항체의 항체 가변 도메인 (V_HH)의 아미노산 잔기가 결정될 수 있고, 그리고 예로서, 프레임워크 영역 내에 낙타 아미노산 중에서 하나 또는 그 이상이 전형적인 형질을 상실하는 폴리펩티드 없이, 인간 공통 서열에서 발견되는 바와 같은 그들의 인간 대응물에 의해 대체된다, 다시 말하면 인간화는 결과의 폴리펩티드의 항원 결합능에 유의미하게 영향을

주지 않는다. 낙타 단일-도메인 항체의 인간화는 단일 폴리펩티드 사슬에서 한정된 양의 아미노산의 도입 및 돌연변이유발을 필요로 한다. 이것은 2개의 사슬, 경쇄 및 중쇄에서 아미노산 변화의 도입 및 양쪽 사슬의 어셈블리의 보존을 필요로 하는 scFv, Fab', (Fab')₂ 및 IgG의 인간화와 대조적이다.

[0239] V_H 도메인을 포함하는 단일-도메인 항체는 인간-유사 서열을 갖도록 인간화될 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에서 이용되는 V_H 도메인의 FR 영역은 인간 V_H 프레임워크 영역에 최소한 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 이상의 아미노산 서열 상동성 중에서 한 가지를 포함한다. 인간화 V_H 도메인의 한 가지 예시적인 부류는 V_Hhs가 Kabat 넘버링에 따라, 위치 45에서 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판, 메티오닌, 세린, 트레오닌, 아스파라긴, 또는 글루타민으로 구성된 군으로부터 아미노산, 예를 들면, 예로서, L45 및 위치 103에서 트립토판을 보유하는 것으로 특징화된다. 따라서, 이러한 부류에 속하는 폴리펩티드는 인간 V_H 프레임워크 영역에 높은 아미노산 서열 상동성을 보여주고, 그리고 상기 폴리펩티드는 그것으로부터 원치 않는 면역 반응의 예상 없이, 그리고 추가 인간화의 부담 없이, 인간에게 직접적으로 투여될 수 있을지도 모른다.

[0240] 인간화 낙타 단일-도메인 항체의 다른 예시적인 부류는 WO 03/035694에서 설명되었고, 그리고 인간 기원의 또는 다른 종으로부터 전통적인 항체에서 전형적으로 발견되는 소수성 FR2 잔기를 내포하지만, 친수성에서 이러한 상실을 이중-사슬 항체로부터 V_H 내에 존재하는 보존된 트립토판 잔기를 대체하는 위치 103에서 하전된 아르기닌 잔기에 의해 보완한다. 따라서, 이들 두 부류에 속하는 펩티드는 인간 V_H 프레임워크 영역에 높은 아미노산 서열 상동성을 보여주고, 그리고 상기 펩티드는 그것으로부터 원치 않는 면역 반응의 예상 없이, 그리고 추가 인간화의 부담 없이, 인간에게 직접적으로 투여될 수 있을지도 모른다.

[0241] 4. 인간 항체

[0242] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 당해 분야에서 공지된 다양한 기술을 이용하여 생산될 수 있다. 인간 항체는 van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)에서 전반적으로 설명된다. 완전 인간 단일-도메인 항체를 생산할 수 있는 유전자도입 생쥐 또는 쥐는 당해 분야에서 공지된다. 가령, US20090307787A1, U.S. 특허 번호 8,754,287, US20150289489A1, US20100122358A1, 그리고 WO2004049794를 참조한다.

[0243] 인간 항체는 항원 공격에 대한 응답으로 무손상 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 포함하는 무손상 항체를 생산하도록 변형된 유전자도입 동물에 면역원을 투여함으로써 제조될 수 있다. 이런 동물은 전형적으로, 내인성 면역글로불린 좌위를 대체하거나, 또는 염색체외로 존재하거나 또는 동물의 염색체 내로 무작위로 통합되는 인간 면역글로불린 좌위의 전부 또는 일부를 내포한다. 이런 유전자도입 생쥐에서, 내인성 면역글로불린 좌위는 일반적으로 비활성화된다. 유전자도입 동물로부터 인간 항체를 획득하기 위한 방법의 리뷰를 위해, Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)를 참조한다. 또한, 예로서, XENOMOUSE™ 기술을 설명하는 U.S. 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584; HuMab® 기술을 설명하는 U.S. 특허 번호 5,770,429; K-M MOUSE® 기술을 설명하는 U.S. 특허 번호 7,041,870, 그리고 VelociMouse® 기술을 설명하는 U.S. 특허 출원 공개 번호 US 2007/0061900을 참조한다. 이런 동물에 의해 산출된 무손상 항체로부터 인간 가변 영역은 예로서, 상이한 인간 불변 영역과 합동함으로써 더욱 변형될 수 있다.

[0244] 인간 항체는 또한, 하이브리도마-기초된 방법에 의해 만들어질 수 있다. 인간 단일클론 항체의 생산을 위한 인간 골수종 및 생쥐-인간 헤테로골수종 세포주가 설명되었다. (가령, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991)을 참조한다). 인간 B-세포 하이브리도마 기법을 통해 산출된 인간 항체 역시 Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)에서 설명된다. 추가 방법은 예로서, U.S. 특허 번호 7,189,826 (하이브리도마 세포주로부터 단일클론 인간 IgM 항체의 생산을 설명) 및 Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (인간-인간 하이브리도마를 설명)에서 설명된 것들을 포함한다. 인간 하이브리도마 기법 (트리오마 기술) 역시 Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) 및 Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)에서 설명된다.

[0245] 인간 항체는 또한, 인간-유래된 파지 전사 라이브러리에서 선택되는 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리함으로써 산출될 수 있다. 이런 가변 도메인 서열은 이후, 원하는 인간 불변 도메인과 합동될 수 있다. 항체 라이브러리

로부터 인간 항체를 선별하기 위한 기술은 아래에 설명된다.

[0246] 특정 항원 또는 표적을 향해 지향된 V_H 서열을 획득하기 위한 한 가지 기술은 중쇄 항체를 발현할 수 있는 유전자도입 포유동물을 적절하게 면역화하고 (즉, 상기 항원 또는 표적을 향해 지향된 면역 반응 및/또는 중쇄 항체를 조성하기 위해), 상기 V_H 서열을 내포하는 상기 유전자도입 포유동물 (이들 서열을 인코딩하는 핵산 서열)로부터 적합한 생물학적 표본 (가령, 혈액 표본, 혈청 표본 또는 B-세포의 표본)을 획득하고, 그리고 이후, 그 자체로 공지된 임의의 적합한 기술 (가령, 본원에서 설명된 방법 중에서 한 가지 또는 하이브리도마 기술)을 이용하여, 상기 표본으로부터 시작하여, 상기 항원 또는 표적을 향해 지향된 V_H 서열을 산출하는 것을 수반한다. 가령, 이런 목적으로, WO 02/085945, WO 04/049794 및 WO 06/008548, 그리고 Janssens et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006 Oct. 10; 103(41):15130-5에서 설명된 중쇄 항체-발현 생쥐 및 추가 방법과 기술이 이용될 수 있다. 가령, 이런 중쇄 항체 발현 생쥐는 임의의 적합한 (단일) 가변 도메인, 예를 들면, 자연 공급원으로부터 (단일) 가변 도메인 (가령, 인간 (단일) 가변 도메인, 낙타 (단일) 가변 도메인 또는 상어 (단일) 가변 도메인)뿐만 아니라 예로서, 합성 또는 반합성 (단일) 가변 도메인을 포함하는 중쇄 항체를 발현할 수 있다.

[0247] 5. 라이브러리-유래된 항체

[0248] 본 출원의 항체는 원하는 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 선별검사함으로써 단리될 수 있다. 가령, 파지 전사 라이브러리를 산출하고, 그리고 원하는 결합 특징을 소유하는 항체에 대해 이런 라이브러리를 선별검사하기 위한 다양한 방법이 당해 분야에서 공지된다. 이런 방법은 예로서, Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)에서 리뷰되고, 그리고 예로서, McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)에서 더욱 설명된다. 단일-도메인 항체 라이브러리를 구축하기 위한 방법은 설명되었다, 예를 들면, U.S. 특허 번호 7371849를 참조한다.

[0249] 일정한 파지 전사 방법에서, V_H 및 V_L 유전자의 레퍼토리는 중합효소 연쇄 반응 (PCR)에 의해 별도로 클로닝되고 파지 라이브러리에서 무작위로 재조합되는데, 이들 라이브러리는 이후, Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)에서 설명된 바와 같이 항원 결합 파지에 대해 선별검사될 수 있다. 파지는 전형적으로, 단일 사슬 Fv (scFv) 단편으로서 또는 Fab 단편으로서 항체 단편을 전사한다. 면역화된 공급원으로부터 라이브러리는 하이브리도마를 구축하는 요건 없이 면역원에 대한 높은 친화성 항체를 제공한다. 대안으로, 미경험 레퍼토리는 Griffiths et al., *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993)에 의해 설명된 바와 같이, 면역화 없이 넓은 범위의 비자가 및 또한 자가 항원에 대한 항체의 단일 공급원을 제공하도록 클로닝될 수 있다 (가령, 인간으로부터). 최종적으로, 미경험 라이브러리는 또한, Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)에 의해 설명된 바와 같이, 줄기 세포로부터 재배열되지 않은 V-유전자 분절을 클로닝하고, 그리고 고도로 가변적 CDR3 영역을 인코딩하고 시험관내에서 재배열을 달성하기 위한 무작위 서열을 내포하는 PCR 프라이머를 이용함으로써 합성적으로 만들어질 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 설명하는 특허 공보는 예로서, US 특허 번호 5,750,373, 그리고 US 특허 공개 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 및 2009/0002360을 포함한다.

[0250] 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은 본원에서 인간 항체 또는 인간 항체 단편인 것으로 고려된다.

[0251] 6. 다중특이적 항체

[0252] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들면, 이중특이적 항체이다. 다중특이적 항체는 최소한 2개의 상이한 부위에 대한 결합 특이성을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 결합 특이성 중에서는 하나는 CD19, CD20, BCMA 및 CD38로 구성된 군에서 선택되는 항원에 대한 것이고, 그리고 다른 하나는 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 일부 구체예에서, 이중특이적 항체는 CD19, CD20, BCMA 및 CD38로 구성된 군에서 선택되는 항원의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한, 세포독성 작용체를 CD19, CD20, BCMA 및 CD38로 구성된 군에서 선택되는 항원을 발현하는 세포로 국부화하는데 이용될 수 있다.

[0253] 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다. 다중특이적 항체를 만들기 위한 기술은 상이한 특이성을 갖는 2개 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 공동발현 (Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), WO 93/08829 및 Traunecker et al., *EMBO J.* 10: 3655 (1991)를 참조한다), 그리고 "노브-인투-홀 (knob-into-hole)" 가공 (가령, U.S. 특허 번호 5,731,168을 참조한다)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 다중특이적 항체는 또한, 항체 Fc-이형이합체성 분자를 만들기 위해 정전 스테어링 효과를 가공하고 (WO 2009/089004A1); 2개 또는 그 이상의 항체 또는 단편을 교차연결하고 (가령, US 특허 번호 4,676,980 및 Brennan et al., *Science*, 229: 81 (1985)을 참조한다); 이중특이적 항체를 생산하기 위해 류신 지퍼를 이용하고 (가령, Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)을 참조한다); 이중특이적 항체 단편을 만들기 위해 "디아바디" 기술을 이용하고 (가령, Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)을 참조한다); 그리고 단일 사슬 Fv (sFv) 이합체를 이용하고 (가령, Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)을 참조한다); 그리고 가령, Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (1991)에서 설명된 바와 같이 삼중특이적 항체를 제조하고; 그리고 탠덤 단일-도메인 항체를 포함하는 폴리펩티드를 창출함으로써 (가령, U.S. 특허 출원 번호 20110028695; 및 Conrath et al. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276(10):7346-50을 참조한다) 만들어질 수 있다. "문어 항체"를 비롯하여, 3개 또는 그 이상의 기능적 항원 결합 부위를 갖는 가공된 항체 역시 본원에서 포함된다 (가령, US 2006/0025576A1을 참조한다).

[0254] 7. 항체 변이체

[0255] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 항체의 아미노산 서열 변이체가 예기된다. 가령, 항체의 결합 친화성 및/또는 다른 생물학적 성질을 향상시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 상기 항체를 인코딩하는 핵산 서열 내로 적절한 변형을 도입함으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이런 변형은 예로서, 항체의 아미노산 서열 내에 잔기로부터 결실 및/또는 잔기 내로 삽입 및/또는 잔기의 치환을 포함한다. 최종 구조체가 원하는 특징, 예를 들면, 항원 결합을 소유한다면, 최종 구조체에 도달하기 위해 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 만들어질 수 있다.

[0256] a) 치환, 삽입 및 결실 변이체

[0257] 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환적 돌연변이유발을 위한 관심되는 부위는 HVRs 및 FRs를 포함한다. 보존성 치환은 "바람직한 치환"의 표제 하에 표 3에서 도시된다. 더욱 실제적인 변화는 "예시적인 치환"의 표제 하에 표 3에서 제공되고, 그리고 아미노산 측쇄 부류에 관하여 아래에 더욱 설명된다. 아미노산 치환은 관심되는 항체 내로 도입될 수 있고, 그리고 산물은 원하는 활성, 예를 들면, 유지된/향상된 항원 결합, 감소된 면역원성, 또는 향상된 ADCC 또는 CDC에 대해 선별검사될 수 있다.

[0258] 표 3. 아미노산 치환

표 3

본래 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser

Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

- [0260] 아미노산은 통상적인 측쇄 성질에 따라 군화될 수 있다: (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- [0261] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- [0262] (3) 산성: Asp, Glu;
- [0263] (4) 염기성: His, Lys, Arg;
- [0264] (5) 사슬 배향정위에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro;
- [0265] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.
- [0266] 비보존성 치환은 이들 부류 중에서 한 가지의 구성원을 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.
- [0267] 치환 변이체의 한 가지 유형은 부모 항체의 하나 또는 그 이상의 초가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다 (가령, 인간화 또는 인간 항체). 일반적으로, 추가 연구를 위해 선별된 결과의 변이체(들)는 부모 항체에 비하여 일정한 생물학적 성질 (가령, 증가된 친화성, 감소된 면역원성)에서 변형 (가령, 향상)을 가질 것이고 및/또는 부모 항체의 실제적으로 유지된 일정한 생물학적 성질을 가질 것이다. 예시적인 치환 변이체는 친화성 성숙된 항체인데, 이것은 예로서, 파지 전시-기초된 친화성 성숙 기술, 예를 들면, 본원에서 설명된 것들을 이용하여 편의하게 산출될 수 있다. 간단히 말하면, 하나 또는 그 이상의 HVR 잔기가 돌연변이되고, 그리고 변이체 항체는 파지에서 전시되고 특정 생물학적 활성 (가령, 결합 친화성)에 대해 선별검사된다.
- [0268] 변경 (가령, 치환)은 예로서, 항체 친화성을 향상시키기 위해 HVRs에서 만들어질 수 있다. 이런 변경은 HVR "핫스팟", 다시 말하면, 체성 성숙 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 인코딩된 잔기 (가령, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)) 및/또는 SDRs (a-CDRs)에서 만들어질 수 있고, 결과의 변이체 V_H 또는 V_L 은 결합 친화성에 대해 시험된다. 이차 라이브러리를 구축하고 이들로부터 재선별함에 의한 친화성 성숙은 예로서, Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))에서 설명되었다. 친화성 성숙의 일부 구체예에서, 다양성이 임의의 다양한 방법 (가령, 오류 가능성 PCR, 사슬 뒤섞음, 또는 올리고뉴클레오타이드-유도 돌연변이)에 의해, 성숙을 위해 선택된 가변적 유전자 내로 도입된다. 이차 라이브러리가 이후 창출된다. 상기 라이브러리는 이후, 원하는 친화성을 갖는 임의의 항체 변이체를 확인하기 위해 선별검사된다. 다양성을 도입하는 다른 방법은 HVR-지향된 접근법을 수반하는데, 여기서 여러 HVR 잔기 (가령, 한 번에 4-6 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 관련된 HVR 잔기는 예로서, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모형화를 이용하여 특이적으로 확인될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.
- [0269] 일부 구체예에서, 치환, 삽입 또는 결실은 이런 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실제적으로 감소시키지 않으면, 하나 또는 그 이상의 HVRs 내에서 일어날 수 있다. 가령, 결합 친화성을 실제적으로 감소시키지 않는 보존성 변경 (가령, 본원에서 제시된 바와 같은 보존성 치환)이 HVRs에서 만들어질 수 있다. 이런 변경은 HVR "핫스팟" 또는 CDRs의 외측일 수 있다. 앞서 제공된 변이체 V_H 서열의 일부 구체예에서, 각 HVR은 변경되지 않거나, 또는 단지 1개, 2개 또는 3개의 아미노산 치환을 내포한다.
- [0270] 돌연변이유발을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인을 위한 유용한 방법은 Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085에 의해 설명된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 불린다. 이러한 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 군 (가령, 하전된 잔기, 예를 들면, Arg, Asp, His, Lys 및 Glu)이 확인되고, 그리고 항체의 항원과의 상호작용이 영향을 받는 지를 결정하기 위해 중성 또는 음성으로 하전된 아미노산 (가령, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체된다. 추가 치환은 초기 치환에 기능적 감수성을 나타내는 아미노산 위치에서 도입될 수 있다. 대안으로 또는 부가적으로, 항체 및 항원 사이에 접촉 포인트를 확인하기 위한 항원 항체 복합체의 결정 구조. 이런 접촉 잔기 및 인접한 잔기는 표적화되거나 또는 치환의 후보로서 제거될 수 있다. 변이체는 이들이 원하는 성질을 내포하는 지를 결정하기 위해 선별검사될 수 있다.
- [0271] 아미노산 서열 삽입은 1개 잔기로부터 100개 또는 그 이상의 잔기를 내포하는 폴리펩티드까지의 길이 범위에서 변하는 아미노- 및/또는 카르복실 말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 복수 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한

다. 말단 삽입의 실례는 N 말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 (가령, ADEPT에 대한) 또는 폴리펩티드에 대한 항체의 N- 또는 C 말단에 용해를 포함한다.

[0272] **b) 당화 변이체**

[0273] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 항체는 항체가 당화되는 정도를 증가시키거나 또는 감소시키기 위해 변경된다. 항체에 당화 부위의 부가 또는 결실은 하나 또는 그 이상의 당화 부위가 창출되거나 또는 제거되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편의하게 달성될 수 있다.

[0274] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우에, 거기에 부착된 탄수화물은 변경될 수 있다. 포유류 세포에 의해 생산된 선천적 항체는 전형적으로, Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 N-연쇄에 의해 일반적으로 부착되는 분지된, 바이안테너리 올리고당류를 포함한다. 가령, Wright et al. *TIBTECH* 15:26-32 (1997)를 참조한다. 올리고당류는 다양한 탄수화물, 예를 들면, 만노오스, N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc), 갈락토오스 및 시알산뿐만 아니라 바이안테너리 올리고당류 구조의 "줄기"에서 GlcNAc에 부착된 푸코오스를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 출원의 항체에서 올리고당류의 변형은 일정한 향상된 성질을 갖는 항체 변이체를 창출하기 위해 만들어질 수 있다.

[0275] 일부 구체예에서, Fc 영역에 부착된 (직접적으로 또는 간접적으로) 푸코오스를 결여하는 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 가령, 이런 항체에서 푸코오스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코오스의 양은 예로서, WO 2008/077546에서 설명된 바와 같이, MALDI-TOF 질량 분광분석법에 의해 측정될 때, Asn 297에 부착된 모든 당구조의 총합 (가령, 복합체, 하이브리드 및 높은 만노오스 구조)에 비하여, Asn297에서 당 사슬 내에 푸코오스의 평균량을 계산함으로써 결정된다. Asn297은 Fc 영역 내에 대략 위치 297 (Fc 영역 잔기의 EU 넘버링)에서 위치된 아스파라긴 잔기를 지칭한다; 하지만, Asn297은 또한, 항체에서 경미한 서열 변이로 인해, 위치 297의 대략 ± 3 아미노산 상류 또는 하류에, 다시 말하면, 위치 294 및 300 사이에 위치될 수 있다. 이런 푸코실화 변이체는 향상된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 가령, US 특허 공개 번호 US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)을 참조한다. "탈푸코실화된" 또는 "푸코오스-결함성" 항체 변이체에 관련된 간행물의 실례는 다음을 포함한다: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). 탈푸코실화된 항체를 생산할 수 있는 세포주의 실례는 단백질 푸코실화에서 결함성인 Lec13 CHO 세포 (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); US 특허 출원 번호 US 2003/0157108 A1, Presta, L; 및 WO 2004/056312 A1, Adams et al., 특히 실시예 11), 그리고 녹아웃 세포주, 예를 들면, 알파-1,6-푸코실전달효소 유전자, *FUT8*, 녹아웃 CHO 세포 (가령, Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); 및 WO2003/085107을 참조한다)를 포함한다.

[0276] 항체 변이체는 예로서, 양분된 올리고당류가 더욱 제공되는데, 여기서 항체의 Fc 영역에 부착된 바이안테너리 올리고당류는 GlcNAc에 의해 양분된다. 이런 항체 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 향상된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이런 항체 변이체의 실례는 예로서, WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); US 특허 번호 6,602,684 (Umana et al.); 및 US 2005/0123546 (Umana et al.)에서 설명된다. Fc 영역에 부착된 올리고당류 내에 최소한 하나의 갈락토오스 잔기를 갖는 항체 변이체 역시 제공된다. 이런 항체 변이체는 향상된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이런 항체 변이체는 예로서, WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); 및 WO 1999/22764 (Raju, S.)에서 설명된다.

[0277] **c) Fc 영역 변이체**

[0279] 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 아미노산 변형이 본원에서 제공된 항체의 Fc 영역 내로 도입되고, 따라서 Fc 영역 변이체가 산출될 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 또는 그 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형 (가령, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (가령, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0280] 일부 구체예에서, 본 출원은 전부는 아니지만 일부 작동체 기능을 소유하는 항체 변이체를 예기하는데, 이들 기능으로 인해 이것은 생체내에서 항체의 반감기가 중요하고, 반면 일정한 작동체 기능 (가령, 보체 및 ADCC)이

불필요하거나 또는 유해한 적용을 위한 바람직한 후보가 된다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 입증하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정이 수행될 수 있다. 가령, 항체가 Fc γ R 결합을 결여 (따라서, ADCC 활성을 아마도 결여)하지만, FcRn 결합 능력을 유지하도록 담보하기 위해, Fc 수용체 (FcR) 결합 검정이 수행될 수 있다. ADCC를 매개하기 위한 일차 세포, NK 세포는 Fc(RIII)만을 발현하고, 반면 단핵구는 Fc(RI, Fc(RII 및 Fc(RIII)을 발현한다. 조혈 세포 상에서 FcR 발현은 Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)의 464 페이지의 표 3에서 요약된다. 관심되는 분자의 ADCC 활성을 사정하기 위한 시험관내 검정의 무제한적 실례는 U.S. 특허 번호 5,500,362 (가령, Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)을 참조한다) 및 Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)을 참조한다)에서 설명된다. 대안으로, 비방사성 검정 방법이 이용될 수 있다 (가령, 유세포분석법의 경우에 ACTITM 비방사성 세포독성 검정 (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; 및 CytoTox 96® 비방사성 세포독성 검정 (Promega, Madison, WI)을 참조한다. 이런 검정을 위한 유용한 작동체 세포는 말초혈 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안으로, 또는 부가적으로, 관심되는 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들면, 동물 모형, 예를 들면, Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)에서 개시된 것에서 사정될 수 있다. 항체가 C1q에 결합할 수 없고, 따라서 CDC 활성을 결여한다는 것을 입증하기 위해, C1q 결합 검정 또한 실행될 수 있다. 가령, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서 C1q와 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 사정하기 위해, CDC 검정이 수행될 수 있다 (가령, Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M.S. and M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)을 참조한다). FcRn 결합 및 생체내 소실/반감기 결정이 또한, 당해 분야에서 공지된 방법을 이용하여 수행될 수 있다 (가령, Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)를 참조한다).

[0281] 감소된 작동체 기능을 갖는 항체는 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중에서 하나 또는 그 이상의 치환을 갖는 것들을 포함한다 (U.S. 특허 번호 6,737,056). 이런 Fc 돌연변이체는 잔기 265 및 297의 알라닌으로의 치환을 갖는 이른바 "DANA" Fc 돌연변이체를 비롯하여, 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중에서 2개 또는 그 이상에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다 (US 특허 번호 7,332,581).

[0282] FcRs에 향상된 또는 축소된 결합을 갖는 일정한 항체 변이체가 설명된다. (가령, U.S. 특허 번호 6,737,056; WO 2004/056312, 및 Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)를 참조한다).

[0283] 일부 구체예에서, 항체 변이체는 ADCC를 향상시키는 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환, 예를 들면, Fc 영역의 위치 298, 333 및/또는 334 (잔기의 EU 넘버링)에서 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다.

[0284] 일부 구체예에서, 예로서 US 특허 번호 6,194,551, WO 99/51642 및 Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)에서 설명된 바와 같이, 변경된 (다시 말하면, 향상된 또는 축소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 유발하는 Fc 영역에서 변경이 만들어진다.

[0285] 증가된 반감기, 그리고 태아에 모계 IgGs의 전달을 책임지는 신생아 Fc 수용체 (FcRn)에 향상된 결합을 갖는 항체 (Guyer et al., *J. Immunol.* 117:587 (1976) 및 Kim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994))는 US2005/0014934A1 (Hinton et al.)에서 설명된다. 이들 항체는 FcRn에 Fc 영역의 결합을 향상시키는, 그 안에 하나 또는 그 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이런 Fc 변이체는 다음의 Fc 영역 잔기 중에서 하나 또는 그 이상에서 치환: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434, 예를 들면, Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것들을 포함한다 (US 특허 번호 7,371,826).

[0286] Fc 영역 변이체의 다른 실례와 관련하여, Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); U.S. 특허 번호 5,648,260; U.S. 특허 번호 5,624,821; 및 WO 94/29351을 또한 참조한다.

[0287] d) 시스테인 가공된 항체 변이체

[0288] 일부 구체예에서, 시스테인 가공된 항체, 예를 들면, "thioMAbs"를 창출하는 것이 바람직할 수 있는데, 여기서 항체의 하나 또는 그 이상의 잔기가 시스테인 잔기로 치환된다. 특정한 구체예에서, 치환된 잔기는 항체의 접근 가능한 부위에서 발생한다. 이들 잔기를 시스테인으로 치환함으로써, 반응성 티올 기는 따라서, 항체의 접근 가능한 부위에서 위치되고, 그리고 항체를 다른 모이어티, 예를 들면, 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 접합하여 본원에서 더욱 설명된 바와 같은 면역접합체를 창출하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 다음의 잔기 중에서 임의의 한 가지 또는 그 이상이 시스테인으로 치환될 수 있다: 중쇄의 A118 (EU 넘버링); 및 중쇄

Fc 영역의 S400 (EU 넘버링). 시스테인 가공된 항체는 예로서, U.S. 특허 번호 7,521,541에서 설명된 바와 같이 산출될 수 있다.

[0289] **e) 항체 유도체**

[0290] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 항체는 당해 분야에서 공지되고 쉽게 가용한 추가 비단백질성 모이어티를 내포하도록 더욱 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 수용성 중합체의 무제한적 실례는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로오스, 텍스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1, 3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (동종중합체 또는 무작위 공중합체), 그리고 벡스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 동종중합체, 프롤틸프로필렌 산화물/에틸렌 산화물 공중합체, 폴리옥시에틸화된 폴리올 (가령, 글리세롤), 폴리비닐 알코올, 그리고 이들의 혼합물을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드는 물에서 안정성으로 인해, 제조 시에 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량일 수 있고, 그리고 분지되거나 또는 분지되지 않을 수 있다. 항체에 부착된 중합체의 숫자는 변할 수 있고, 그리고 하나 이상의 중합체가 부착되면, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 이용되는 중합체의 숫자 및/또는 유형은 향상되는 항체의 특정 성질 또는 기능, 항체 유도체가 규정된 조건 하에 요법에서 이용될 것인지의 여부 등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 고려 사항에 근거하여 결정될 수 있다.

[0291] 일부 구체예에서, 방사선에 노출에 의해 선별적으로 가열될 수 있는 항체 및 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 일부 구체예에서, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다 (Kam et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은 임의의 파장일 수 있고, 그리고 일상적인 세포를 훼손하지 않지만 비단백질성 모이어티를 항체-비단백질성 모이어티의 근위에 세포가 사멸되는 온도까지 가열하는 파장을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0292] **제조 방법**

[0293] 본원에서 설명된 항체 (가령, 단일-도메인 항체)는 당해 분야에서 공지된 또는 본원에서 설명된 바와 같은 임의의 방법을 이용하여 제조될 수 있다.

[0294] 단일-도메인 항체를 제조하는 방법은 설명되었다. 가령, Els Pardon et al, *Nature Protocol*, 2014; 9(3): 674를 참조한다. 단일-도메인 항체 (가령, V_HHs)는 당해 분야에서 공지된 방법을 이용하여, 예를 들면, 낙타 종 (가령, 낙타 또는 라마)를 면역화하고 그것으로부터 하이브리도마를 획득함으로써, 또는 당해 분야에서 공지된 분자생물학 기술을 이용하여 단일-도메인 항체의 라이브러리를 클로닝하고 비선택된 라이브러리의 개별 클론으로 ELISA에 의해 차후 선별함으로써, 또는 파지 전사를 이용함으로써 획득될 수 있다.

[0295] 단일-도메인 항체의 재조합 생산을 위해, 단일-도메인 항체를 인코딩하는 핵산은 단리되고, 그리고 추가 클로닝 (DNA의 증폭) 또는 발현을 위해 복제가능한 벡터 내로 삽입된다. 단일-도메인 항체를 인코딩하는 DNA는 전통적인 절차를 이용하여 (가령, 항체의 중쇄와 경쇄를 인코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써) 쉽게 단리되거나 또는 염기서열결정된다. 많은 벡터가 가용하다. 벡터의 선택은 이용되는 숙주 세포에 부분적으로 의존한다. 일반적으로, 바람직한 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 (일반적으로 포유류) 기원이다.

[0296] **1. 다중클론 항체**

[0297] 다중클론 항체는 일반적으로, 유관한 항원 및 어쥬번트의 복수 피하 (sc) 또는 복강내 (ip) 주사에 의해 동물에서 조성된다. 이것은 이중기능성 또는 유도체화 작용제, 예를 들면, 말레이미도벤조일 술포숙신이미드 에스테르 (시스테인 잔기를 통한 접합), N-히드록시숙신이미드 (리신 잔기를 통해), 글루타르알데히드, 숙신산 무수물, SOCl₂, 또는 R¹N=C=NR (여기서 R과 R¹은 독립적으로 저급 알킬 기이다)를 이용하여, 면역화되는 종에서 면역원성인 단백질, 예를 들면, 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH), 혈청 알부민, 소 티로글로불린, 또는 콩 트립신 저해제에 유관한 항원을 접합하는데 유용할 수 있다. 이용될 수 있는 어쥬번트의 실례는 프로인드 완전 어쥬번트 및 MPL-TDM 어쥬번트 (모노포스포릴 지질 A, 합성 트레할로스 디코리노미콜레이트)를 포함한다. 면역화 프로토콜은 과도한 실험 없이 당업자에 의해 선별될 수 있다.

[0298] 이들 동물은 100 µg 또는 5 µg의 단백질 또는 접합체 (각각, 토끼 또는 생쥐의 경우)를 3 부피의 프로인드 완전 어쥬번트와 합동하고 용액을 복수 부위에서 피내 주사함으로써, 항원, 면역원성 접합체, 또는 유도체에 대항

하여 면역화된다. 1 개월 후, 이들 동물은 복수 부위에서 피하 주사에 의해 프로인드 완전 어쥬번트에서 펩티드 또는 접합체의 최초 양의 1/5 내지 1/10로 부양된다. 7 내지 14 일 후, 이들 동물은 채혈되고, 그리고 혈청은 항체 역가에 대해 검정된다. 동물은 역가가 안정 상태를 유지할 때까지 부양된다. 접합체는 또한, 재조합 세포 배양 동안 단백질 융합체로서 만들어질 수 있다. 또한, 응집 작용제, 예를 들면, 백반이 면역 반응을 증강하는데 적절하다.

2. 단일클론 항체

단일클론 항체는 실제로 균질한 항체의 개체군으로부터 획득된다, 다시 말하면, 상기 개체군을 구성하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생 돌연변이 및/또는 번역후 변형 (가령, 이성화, 아미드화)을 제외하고 동일하다. 따라서, 수식어 "단일클론"은 구별된 항체의 혼합물이 아닌 항체의 특징을 지시한다.

가령, 단일클론 항체는 Kohler *et al.*, *Nature*, 256:495 (1975)에 의해 최초 설명된 하이브리도마 방법을 이용하여 만들어질 수 있거나, 또는 재조합 DNA 방법 (U.S. 특허 번호 4,816,567)에 의해 만들어질 수 있다.

하이브리도마 방법에서, 생쥐 또는 다른 적절한 숙주 동물, 예를 들면, 햄스터는 면역화에 이용된 단백질에 특이적으로 결합할 항체를 생산하거나 또는 생산할 수 있는 림프구를 이끌어내기 위해 위에서 설명된 바와 같이 면역화된다. 대안으로, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다. 림프구는 이후, 하이브리도마 세포를 형성하기 위해, 적합한 융합 작용제, 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 골수종 세포와 융합된다 (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)).

면역화 작용제는 전형적으로, 항원성 단백질 또는 이의 융합 변이체를 포함할 것이다. 일반적으로, 인간 기원의 세포가 요망되면 말초혈 림프구 ("PBLs")가 이용되고, 또는 비인간 포유류 공급원이 요망되면 비장 세포 또는 림프절 세포가 이용된다. 림프구는 이후, 하이브리도마 세포를 형성하기 위해, 적합한 융합 작용제, 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 영속화된 세포주와 융합된다. Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pp. 59-103.

영속화된 세포주는 통상적으로 형질전환된 포유류 세포, 특히 설치류, 소 및 인간 기원의 골수종 세포이다. 통상적으로, 쥐 또는 생쥐 골수종 세포주가 이용된다. 이렇게 제조된 하이브리도마 세포는 바람직하게는, 융합되지 않은, 부모 골수종 세포의 성장 또는 생존을 저해하는 하나 또는 그 이상의 물질을 내포하는 적합한 배양 배지에서 과종되고 성장된다. 가령, 부모 골수종 세포가 효소 하이포크산틴 구아닌 포스포리보실 전달효소 (HGPRT 또는 HPRT)를 결여하면, 하이브리도마에 대한 배양 배지는 전형적으로, 하이포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘 (HAT 배지)을 포함할 것인데, 이들 물질은 HGPRT-결합성 세포의 성장을 예방한다.

바람직한 영속화된 골수종 세포는 효율적으로 융합하고, 선별된 항체 생산 세포에 의한 항체의 안정된 높은-수준 생산을 뒷받침하고, 그리고 배지, 예를 들면, HAT 배지에 민감한 것들이다. 이들 중에서, 뮤린 골수종 라인, 예를 들면, Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, Calif. USA로부터 가용한 MOPC-21 및 MPC-11 생쥐 종양, 그리고 American Type Culture Collection, Manassas, Va. USA로부터 가용한 SP-2 세포 (및 이들의 유도체, 예를 들면, X63-Ag8-653)로부터 유래된 것들이 바람직하다. 또한, 인간 단일클론 항체의 생산을 위한 인간 골수종 및 생쥐-인간 헤테로골수종 세포주가 설명되었다 (Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지는 항원을 향해 지향된 단일클론 항체의 생산에 대해 검정된다. 바람직하게는, 하이브리도마 세포에 의해 생산된 단일클론 항체의 결합 특이성은 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 검정, 예를 들면, 방사면역검정 (RIA) 또는 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 결정된다.

하이브리도마 세포가 배양되는 배양 배지는 원하는 항원을 향해 지향된 단일클론 항체의 존재에 대해 검정될 수 있다. 바람직하게는, 단일클론 항체의 결합 친화성 및 특이성은 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 검정, 예를 들면, 방사면역검정 (RIA) 또는 효소-연결된 검정 (ELISA)에 의해 결정될 수 있다. 이런 기술 및 검정은 당해 분야에서 알려져 있다. 가령, 결합 친화성은 Munson *et al.*, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)의 스캐차드 분석에 의해 결정될 수 있다.

원하는 특이성, 친화성 및/또는 활성의 항체를 생산하는 하이브리도마 세포가 확인된 후, 클론은 제한 희석 절차에 의해 하위클로닝되고 표준 방법에 의해 성장될 수 있다 (Goding, 위와 같음). 이런 목적으로 적합한 배양 배지는 예로서, D-MEM 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 이에 더하여, 하이브리도마 세포는 포유동물 내에 종양

으로서 생체내에서 성장될 수 있다.

- [0309] 하위클론에 의해 분비된 단일클론 항체는 전통적인 면역글로불린 정제 절차, 예를 들면, 예로서, 단백질 A-세프로오스, 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전기이동, 투석, 또는 친화성 크로마토그래피에 의해 배양 배지, 복수 유체 또는 혈청으로부터 적절하게 분리된다.
- [0310] 단일클론 항체는 또한, 재조합 DNA 방법, 예를 들면, U.S. 특허 번호 4,816,567에서 설명된 것들에 의해, 그리고 앞서 설명된 바와 같이 만들어질 수 있다. 단일클론 항체를 인코딩하는 DNA는 전통적인 절차를 이용하여 (가령, 유린 항체의 중쇄와 경쇄를 인코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써) 쉽게 단리되거나 또는 염기서열결정된다. 하이브리도마 세포는 이런 DNA의 바람직한 공급원으로서 역할을 한다. 일단 단리되면, DNA는 발현 벡터 내로 배치될 수 있고, 이들 벡터는 이후, 이런 재조합 숙주 세포에서 단일클론 항체를 합성하기 위해, 숙주 세포, 예를 들면, 대장균 (*E. coli*) 세포, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포, 또는 만약 그렇지 않으면, 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 골수종 세포 내로 형질감염된다. 항체를 인코딩하는 DNA의 세균에서 재조합 발현에 관한 리뷰 논문은 Skerra *et al.*, *Curr. Opinion in Immunol.*, 5:256-262 (1993) 및 Plickthun, *Immunol. Revs.* 130:151-188 (1992)을 포함한다.
- [0311] 추가 구체예에서, 항체는 McCafferty *et al.*, *Nature*, 348:552-554 (1990)에서 설명된 기술을 이용하여 산출된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991) 및 Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991)은 각각, 파지 라이브러리를 이용한 유린 및 인간 항체의 단리를 설명한다. 차후 간행물은 사슬 뒤섞임에 의한 높은 친화성 (nM 범위) 인간 항체의 생산 (Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10:779-783 (1992))뿐만 아니라 매우 큰 파지 라이브러리를 구축하기 위한 전략으로서 조합 감염 및 생체내 재조합 (Waterhouse *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 21:2265-2266 (1993))을 설명한다. 따라서, 이들 기술은 단일클론 항체의 단리를 위한 전통적인 단일클론 항체 하이브리도마 기술에 대한 실행가능한 대안이다.
- [0312] DNA는 또한, 예로서 상동성 유린 서열 대신에 인간 중쇄와 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열로 치환함으로써 (U.S. 특허 번호 4,816,567; Morrison, *et al.*, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984)), 또는 비면역글로불린 폴리펩티드에 대한 코딩 서열 중에서 전부 또는 일부를 면역글로불린 코딩 서열에 공유적으로 연결함으로써 변형될 수 있다. 전형적으로, 이런 비면역글로불린 폴리펩티드는 항체의 불변 도메인을 대체하거나, 또는 이들은 항체의 한쪽 항원 결합 부위의 가변 도메인을 대체하여 한 항원에 대한 특이성을 갖는 항원 결합 부위 및 상이한 항원에 대한 특이성을 갖는 다른 항원 결합 부위를 포함하는 키메라 이가 항체를 창출한다.
- [0313] 본원에서 설명된 단일클론 항체는 일가일 수 있는데, 이의 제조는 당해 분야에서 널리 공지된다. 가령, 한 가지 방법은 면역글로불린 경쇄 및 변형된 중쇄의 재조합 발현을 수반한다. 중쇄는 일반적으로, 중쇄 교차연결을 예방하기 위해 Fc 영역 내에 임의의 포인트에서 절두된다. 대안으로, 유관한 시스테인 잔기는 교차연결을 예방하기 위해 다른 아미노산 잔기로 치환되거나 또는 결실될 수 있다. 시험관내 방법 역시 일가 항체를 제조하는데 적합하다. 단편, 특히 Fab 단편을 생산하기 위한 항체의 소화는 당해 분야에서 공지된 일과적인 기술을 이용하여 달성될 수 있다.
- [0314] 키메라 또는 하이브리드 항체는 또한, 교차연결 작용제를 필요로 하는 것들 비롯하여, 합성 단백질 화학에서 공지된 방법을 이용하여 시험관내에서 제조될 수 있다. 가령, 면역독소는 이황화물-교환 반응을 이용하여 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 작제될 수 있다. 이런 목적으로 적합한 시약의 실례는 이미노티올레이트 및 메틸-4-메르캅토부티르이미데이트를 포함한다.
- [0315] **3. 원핵 세포에서 재조합 생산**
- [0316] **a) 벡터 작제**
- [0317] 본 출원의 항체를 인코딩하는 다중핵산 서열은 표준 재조합 기술을 이용하여 획득될 수 있다. 원하는 다중핵산 서열은 항체 생산 세포, 예를 들면, 하이브리도마 세포로부터 단리되고 염기서열결정될 수 있다. 대안으로, 폴리뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 합성장치 또는 PCR 기술을 이용하여 합성될 수 있다. 일단 획득되면, 폴리펩티드를 인코딩하는 서열은 원핵 숙주에서 이중성 폴리뉴클레오타이드를 복제하고 발현할 수 있는 재조합 벡터 내로 삽입된다. 당해 분야에서 가용하고 공지된 많은 벡터가 본 발명의 목적에 이용될 수 있다. 적절한 벡터의 선별은 벡터 내로 삽입되는 핵산의 크기 및 벡터로 형질전환되는 특정 숙주 세포에 주로 의존할 것이다. 각 벡터는 기능 (이중성 폴리뉴클레오타이드의 증폭 또는 발현, 또는 둘 모두) 및 이것이 체류하는 특정 숙주 세포와의 양립성에 따라 다양한 성분을 내포한다. 벡터 성분은 일반적으로, 다음을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: 복제 기점, 선별 마커 유전자, 프로모터, 리보솜 결합 부위 (RBS), 신호 서열, 이중성 핵산 삽입물 및 전사 종결 서

열.

- [0318] 일반적으로, 숙주 세포와 양립성인 종으로부터 유래되는 레플리콘 및 제어 서열을 내포하는 플라스미드 벡터가 이들 숙주와 관련하여 이용된다. 벡터는 통상적으로, 복제 부위뿐만 아니라 형질전환된 세포에서 표현형 선별을 제공할 수 있는 표지 서열을 보유한다. 가령, 대장균 (*E. coli*)은 전형적으로, 대장균 (*E. coli*) 종으로부터 유래된 플라스미드인 pBR322를 이용하여 형질전환된다. pBR322는 암피실린 (Amp) 및 테트라사이클린 (Tet) 내성을 인코딩하는 유전자를 내포하고, 그리고 따라서, 형질전환된 세포를 확인하기 위한 쉬운 수단을 제공한다. pBR322, 이의 유도체, 또는 다른 미생물 플라스미드 또는 박테리오파지는 또한, 내인성 단백질의 발현을 위해 미생물 생물체에 의해 이용될 수 있는 프로모터를 내포하거나, 또는 내포하도록 변형될 수 있다. 특정 항체의 발현에 이용되는 pBR322 유도체의 실례는 Carter *et al.*, U.S. 특허 번호 5,648,237에서 상세하게 설명된다.
- [0319] 이에 더하여, 숙주 미생물과 양립하는 레플리콘 및 제어 서열을 내포하는 파지 벡터는 이들 숙주와 관련하여 형질전환 벡터로서 이용될 수 있다. 가령, 박테리오파지, 예를 들면, GEM™-11은 감수성 숙주 세포, 예를 들면, 대장균 (*E. coli*) LE392를 변환하는데 이용될 수 있는 재조합 벡터를 만드는데 활용될 수 있다.
- [0320] 본 출원의 발현 벡터는 각각의 폴리펩티드 성분을 인코딩하는 2개 또는 그 이상의 프로모터-시스트론 쌍을 포함할 수 있다. 프로모터는 이의 발현을 조정하는 시스트론의 상류 (5')에 위치한 번역되지 않는 조절 서열이다. 원핵 프로모터는 전형적으로, 2가지 부류, 유도성 및 구조성에 속한다. 유도성 프로모터는 배양 조건의 변화, 예를 들면, 영양소의 존재 또는 부재 또는 온도에서 변화에 대한 응답으로 자신의 제어 하에 증가된 수준의 시스트론의 전사를 개시하는 프로모터이다.
- [0321] 다양한 잠재적 숙주 세포에 의해 인식되는 다수의 프로모터가 널리 알려져 있다. 선별된 프로모터는 제한 효소 소화를 통해 공급된 DNA로부터 프로모터를 제거하고 단리된 프로모터 서열을 본 출원의 벡터 내로 삽입함으로써 경쇄 또는 중쇄를 인코딩하는 시스트론 DNA에 작동가능하게 연결될 수 있다. 선천적 프로모터 서열 및 많은 이종성 프로모터 둘 모두 표적 유전자의 증폭 및/또는 발현을 주동하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 이종성 프로모터가 활용되는데, 그 이유는 이들이 일반적으로, 선천적 표적 폴리펩티드 프로모터와 비교하여, 발현된 표적 유전자의 더욱 큰 전사 및 더욱 높은 수율을 허용하기 때문이다.
- [0322] 원핵 숙주에서 이용하기 적합한 프로모터는 PhoA 프로모터, -갈락타마아제 및 락토오스 프로모터 시스템, 트립토판 (*trp*) 프로모터 시스템 및 하이브리드 프로모터, 예를 들면, *tac* 또는 *trc* 프로모터를 포함한다. 하지만, 세균에서 기능적인 다른 프로모터 (가령, 다른 공지된 세균 또는 파지 프로모터) 역시 적합하다. 이들의 핵산 서열은 공개되었고, 따라서 당업자가 임의의 필요한 제한 부위를 공급하기 위해 링커 또는 어댑터를 이용하여, 표적 경쇄와 중쇄를 인코딩하는 시스트론에 이들을 작동가능하게 결합하는 것을 실시가능하게 한다 (Siebenlist *et al.* (1980) *Cell* 20: 269).
- [0323] 한 양상에서, 재조합 벡터 내에 각 시스트론은 막을 교차하여, 발현된 폴리펩티드의 전위를 주동하는 분비 신호 서열 성분을 포함한다. 일반적으로, 신호 서열은 벡터의 성분일 수 있거나, 또는 이것은 벡터 내로 삽입되는 표적 폴리펩티드 DNA의 일부분일 수 있다. 본 발명을 위해 선별된 신호 서열은 숙주 세포에 의해 인식되고 처리되는 (다시 말하면, 신호 펩티드분해효소에 의해 개열되는) 것이어야 한다. 이종성 폴리펩티드에 선천적인 신호 서열을 인식하고 처리하지 않는 원핵 숙주 세포의 경우에, 신호 서열은 예로서, 알칼리 인산분해효소, 페니실린 분해효소, Ipp, 또는 열저항 장독소 II (STII) 리더, LamB, PhoE, PelB, OmpA 및 MBP로 구성된 군에서 선택되는 원핵 신호 서열에 의해 치환된다. 본 출원의 일부 구체예에서, 발현 시스템의 양쪽 시스트론에서 이용되는 신호 서열은 STII 신호 서열 또는 이들의 변이체이다.
- [0324] 일부 구체예에서, 본 출원에 따른 항체의 생산은 숙주 세포의 세포질에서 일어날 수 있고, 그리고 이런 이유로, 각 시스트론 내에 분비 신호 서열의 존재를 필요로 하지 않는다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드 성분, 예를 들면, 두 번째 항원 결합 부분에 임의선택적으로 융합된 첫 번째 항원 결합 부분의 V_H 도메인을 인코딩하는 폴리펩티드 및 두 번째 항원 결합 부분에 임의선택적으로 융합된 첫 번째 항원 결합 부분의 V_L 도메인을 인코딩하는 폴리펩티드는 발현되고, 접합되고, 조립되어 세포질 내에 기능적 항체를 형성한다. 일정한 숙주 균주 (가령, 대장균 (*E. coli*) *trxB* 균주)는 이황화 결합 형성에 우호적인 세포질 조건을 제공하고, 따라서 발현된 단백질 아단위의 적절한 접합 및 어셈블리를 허용한다. Proba and Pluckthun *Gene*, 159:203 (1995).
- [0325] 본 발명은 발현된 폴리펩티드 성분의 정량적 비율이 본 출원의 분비되고 적절하게 조립된 항체의 수율을 최대화하기 위해 조정될 수 있는 발현 시스템을 제공한다. 이런 조정은 폴리펩티드 성분에 대한 번역 강도를 동시에 조정함으로써 최소한 부분적으로 달성된다. 번역 강도를 조정하기 위한 한 가지 기술은 Simmons *et al.*, U.S.

특허 번호 5,840,523에서 개시된다. 이것은 시스트론 내에 번역 개시 영역 (TIR)의 변이체를 활용한다. 소정의 TIR에 대해, 일련의 아미노산 또는 핵산 서열 변이체가 다양한 번역 강도에서 창출될 수 있고, 따라서 특정한 사슬의 발현 수준을 위해 이러한 인자를 조정하는 편의한 수단을 제공한다. TIR 변이체는 비록 핵산 서열에서 침묵 변화가 선호되긴 하지만, 아미노산 서열을 변경할 수 있는 코돈 변화를 유발하는 전통적인 돌연변이 유발 기술에 의해 산출될 수 있다. TIR에서 변경은 신호 서열에서 변경과 함께, 예로서 샤인 달가노 서열의 숫자 또는 간격에서 변경을 포함할 수 있다. 돌연변이체 신호 서열을 산출하기 위한 한 가지 방법은 신호 서열의 아미노산 서열을 변화시키지 않는 코딩 서열의 시작에서 "코돈 은행"의 산출이다 (다시 말하면, 변화는 침묵이다). 이것은 각 코돈의 세 번째 뉴클레오티드 위치를 변화시킴으로써 달성될 수 있다; 부가적으로, 일부 아미노산, 예를 들면, 류신, 세린 및 아르기닌은 상기 은행을 만드는데 복잡성을 부가할 수 있는 복수의 첫 번째와 두 번째 위치를 갖는다. 이러한 돌연변이 유발 방법은 Yansura *et al.* (1992) *METHODS: A Companion to Methods in Enzymol.* 4:151-158에서 상세하게 설명된다.

[0326] 바람직하게는, 한 세트의 벡터가 그 안에 각 시스트론에 대해 다양한 TIR 강도에서 산출된다. 이러한 한정된 세트는 각 사슬의 발현 수준뿐만 아니라 다양한 TIR 강도 조합 하에 원하는 단백질 산물의 수율의 비교를 제공한다. TIR 강도는 Simmons *et al.* U.S. 특허 번호 5,840,523에서 상세하게 설명된 바와 같이, 리porter 유전자의 발현 수준을 정량함으로써 결정될 수 있다. 번역 강도 비교에 근거하여, 원하는 개별 TIRs는 선별되고 본 출원의 발현 벡터 구조체에서 합동된다.

[0327] **b) 원핵 숙주 세포.**

[0328] 본 출원의 항체를 발현하는데 적합한 원핵 숙주 세포는 원시세균 및 진정세균, 예를 들면, 그람 음성 또는 그람 양성 생물체를 포함한다. 유용한 세균의 실례는 에세리키아 (*Escherichia*) (가령, 대장균 (*E. coli*)), 바실루스 (가령, 바실루스 서브틸리스 (*B. subtilis*)), 엔테로박테리아 (*Enterobacteria*), 슈도모나스 (*Pseudomonas*) 종 (가령, 녹농균 (*P. aeruginosa*)), 살모넬라 티피뮤리움 (*Salmonella typhimurium*), 세라티아 마르세센스 (*Serratia marcescans*), 클렙시엘라 (*Klebsiella*), 프로테우스 (*Proteus*), 시겔라 (*Shigella*), 리조비아 (*Rhizobia*), 비트레오스실라 (*Vitreoscilla*), 또는 파라코쿠스 (*Paracoccus*)를 포함한다. 일부 구체예에서, 그람 음성 세포가 이용된다. 한 구체예에서, 대장균 (*E. coli*) 세포가 본 발명을 위한 숙주로서 이용된다. 대장균 (*E. coli*) 균주의 실례는 균주 W3110 (Bachmann, *Cellular and Molecular Biology*, vol. 2 (Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1987), pp. 1190-1219; ATCC 기탁 번호 27,325), 그리고 유전자형 W3110 AfhuA (AtonA) ptr3 lac Iq lacL8 AompT A(nmpc-fepE) degP41 kan^R을 갖는 균주 33D3 (U.S. 특허 번호 5,639,635)을 비롯한 이의 유도체를 포함한다. 다른 균주 및 이들의 유도체, 예를 들면, 대장균 (*E. coli*) 294 (ATCC 31,446), 대장균 (*E. coli*) B, 대장균 (*E. coli*) 1776 (ATCC 31,537) 및 대장균 (*E. coli*) RV308(ATCC 31,608) 또한 적합하다. 이들 실례는 제한하기 보다는 예시이다. 규정된 유전자형을 갖는 전술한 세균 중에서 한 가지의 유도체를 구축하기 위한 방법은 당해 분야에서 공지되고, 그리고 예로서, Bass *et al.*, *Proteins*, 8:309-314 (1990)에서 설명된다. 세균의 세포에서 레플리콘의 복제가능성을 고려하여, 적절한 세균을 선별하는 것이 일반적으로 필요하다. 가령, 널리 공지된 플라스미드, 예를 들면, pBR322, pBR325, pACYC177, 또는 pKN410이 레플리콘을 공급하는데 이용될 때, 대장균 (*E. coli*), 세라티아 (*Serratia*), 또는 살모넬라 (*Salmonella*) 종이 숙주로서 적절하게 이용될 수 있다.

[0329] 전형적으로, 숙주 세포는 최소 양의 단백질분해효소를 분비해야 하고, 그리고 추가 단백질분해효소 저해제가 바람직하게는 세포 배양액에 통합될 수 있다.

[0330] **c) 단백질 생산**

[0331] 숙주 세포는 전술한 발현 벡터로 형질전환되고, 그리고 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선별하거나, 또는 원하는 서열을 인코딩하는 유전자를 증폭하는데 타당하면 변형된 전통적인 영양 배지에서 배양된다. 형질전환은 DNA가 염색체의 요소로서 또는 염색체 구성 부분에 의해 복제가능하도록, DNA를 원핵 숙주 내로 도입하는 것을 의미한다. 이용된 숙주 세포에 따라, 형질전환은 이런 세포에 타당한 표준 기술을 이용하여 행워진다. 염화칼슘을 이용한 칼슘 처리가 실제적인 세포-벽 장벽을 내포하는 세균 세포에 일반적으로 이용된다. 형질전환을 위한 다른 방법은 폴리에틸렌 글리콜/DMSO를 이용한다. 이용되는 또 다른 기술은 전기천공이다.

[0332] 본 출원의 항체를 생산하는데 이용되는 원핵 세포는 당해 분야에서 공지되고 선별된 숙주 세포의 배양에 적합한 배지에서 성장된다. 적합한 배지의 실례는 루리아 액체배지 (LB) + 필요한 영양소 보충물을 포함한다. 일부 구체예에서, 배지는 또한, 발현 벡터를 내포하는 원핵 세포의 성장을 선별적으로 허용하기 위해, 발현 벡터의 구성에 근거하여 선택된 선별 작용제를 내포한다. 가령, 암피실린이 암피실린 내성 유전자를 발현하는 세포의 성

장을 위해 배지에 첨가된다.

- [0333] 탄소, 질소 및 무기 인산염 공급원 이외에 임의의 필요한 보충물은 또한, 단독으로 또는 다른 보충물 또는 배지, 예를 들면, 복합 질소원과의 혼합물로서 도입된 적절한 농도에서 포함될 수 있다. 임의선택적으로, 배양 배지는 글루타티온, 시스테인, 시스타민, 티오글리콜레이트, 디티오에리트리트 및 디티오프레이톨로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 환원제를 내포할 수 있다.
- [0334] 원핵 숙주 세포는 적합한 온도에서 배양된다. 대장균 (*E. coli*) 성장을 위해, 예로서, 바람직한 온도는 약 20℃ 내지 약 39℃, 더욱 바람직하게는 약 25℃ 내지 약 37℃, 이보다 더욱 바람직하게는 약 30℃의 범위에 있다. 배지의 pH는 주로 숙주 생명체에 따라서, 약 5 내지 약 9의 범위에서 변하는 임의의 pH일 수 있다. 대장균 (*E. coli*)의 경우에, pH는 바람직하게는 약 6.8 내지 약 7.4, 그리고 더욱 바람직하게는 약 7.0이다.
- [0335] 유도성 프로모터가 본 출원의 발현 벡터에서 이용되면, 단백질 발현은 상기 프로모터의 활성화에 적합한 조건 하에 유도된다. 본 출원의 한 양상에서, PhoA 프로모터가 폴리펩티드의 전사를 제어하는데 이용된다. 따라서, 형질전환된 숙주 세포는 유도를 위한 인산염-제한 배지에서 배양된다. 바람직하게는, 인산염-제한 배지는 C.R.A.P 배지이다 (가령, Simmons *et al.*, *J. Immunol. Methods* (2002), 263:133-147을 참조한다). 당해 분야에서 공지된 바와 같이, 이용된 벡터 구조체에 따라, 다양한 다른 유도인자가 이용될 수 있다.
- [0336] 본 출원의 발현된 항체는 숙주 세포의 주변세포질 내로 분비되고 이로부터 회수된다. 단백질 회수는 전형적으로, 미생물을 일반적으로 삼투압 충격, 초음파처리 또는 용해와 같은 수단에 의해 파괴하는 것을 수반한다. 일단 세포가 파괴되면, 세포 조직과편 또는 전체 세포가 원심분리 또는 여과에 의해 제거될 수 있다. 단백질은 예로서, 친화성 수지 크로마토그래피에 의해 더욱 정제될 수 있다. 대안으로, 단백질은 배양 배지 내로 수송되고 그 안에서 단리될 수 있다. 세포는 배양액으로부터 제거될 수 있고, 그리고 배양 상층액이 생산된 단백질의 추가 정제를 위해 여과되고 농축될 수 있다. 발현된 폴리펩티드는 더욱 단리되고, 그리고 통상적으로 공지된 방법, 예를 들면, 폴리아크릴아미드 겔 전기이동 (PAGE) 및 웨스턴 블롯 검정을 이용하여 확인될 수 있다.
- [0337] 대안으로, 단백질 생산은 발효 과정에 의해 대량으로 수행된다. 다양한 대규모 유가식 발효 절차가 재조합 단백질의 생산에 가용하다. 대규모 발효는 최소한 1000 리터의 용량, 바람직하게는 약 1,000 내지 100,000 리터의 용량을 갖는다. 이들 발효기는 산소 및 영양소, 특히 글루코오스 (바람직한 탄소/에너지 공급원)를 분배하기 위해 혼합기 임펠러를 이용한다. 소규모 발효는 일반적으로, 체적 용량에서 거의 100 리터 이내이고, 그리고 약 1 리터 내지 약 100 리터의 범위에서 변할 수 있는 발효기에서 발효를 지칭한다.
- [0338] 발효 과정 동안, 단백질 발현의 유도는 전형적으로, 세포가 적합한 조건 하에 원하는 밀도, 예를 들면, 약 180-220의 OD₅₅₀까지 성장된 후 시작되는데, 이 시기에 세포는 초기 정지기에 있다. 당해 분야에서 공지되고 앞서 설명된 바와 같이, 이용된 벡터 구조체에 따라, 다양한 유도인자가 이용될 수 있다. 세포는 유도에 앞서 더욱 짧은 기간 동안 성장될 수 있다. 세포는 비록 더욱 긴 또는 더욱 짧은 유도 시간이 이용될 수 있긴 하지만, 통상적으로 약 12-50 시간 동안 유도된다.
- [0339] 본 출원의 항체의 생산 수율 및 품질을 향상시키기 위해, 다양한 발효 조건이 변형될 수 있다. 가령, 분비된 폴리펩티드의 적절한 어셈블리 및 접힘을 향상시키기 위해, 샤프론 단백질, 예를 들면, Dsb 단백질 (DsbA, DsbB, DsbC, DsbD 및 또는 DsbG) 또는 FkpA (샤프론 활성을 갖는 펩티딜프롤릴 시스,트랜스-이소머화효소)를 과다발현하는 추가 벡터가 숙주 원핵 세포를 공동형질전환하는데 이용될 수 있다. 샤프론 단백질은 세균 숙주 세포에서 생산되는 이중성 단백질의 적절한 접힘 및 용해도를 조장하는 것으로 증명되었다. Chen *et al.* (1999) *J Bio Chem* 274:19601-19605; Georgiou *et al.*, U.S. 특허 번호 6,083,715; Georgiou *et al.*, U.S. 특허 번호 6,027,888; Bothmann and Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17100-17105; Ramm and Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17106-17113; Arie *et al.* (2001) *Mol. Microbiol.* 39:199-210.
- [0340] 발현된 이중성 단백질 (특히, 단백질분해적으로 민감한 것들)의 단백질분해를 최소화하기 위해, 단백질분해효소에 결합성인 일정한 숙주 군주가 본 발명에 이용될 수 있다. 가령, 숙주 세포 군주는 공지된 세균 프로테아제, 예를 들면, 프로테아제 III, OmpT, DegP, Tsp, 프로테아제 I, 프로테아제 Mi, 프로테아제 V, 프로테아제 VI 및 이들의 조합을 인코딩하는 유전자에서 유전적 돌연변이(들)를 달성하기 위해 변형될 수 있다. 일부 대장균 (*E. coli*) 프로테아제-결합성 군주가 가용하고, 그리고 예로서, Joly *et al.* (1998), 위와 같음; Georgiou *et al.*, U.S. 특허 번호 5,264,365; Georgiou *et al.*, U.S. 특허 번호 5,508,192; Hara *et al.*, *Microbial Drug Resistance*, 2:63-72 (1996)에서 설명된다.
- [0341] 단백질분해효소에 결합성이고, 그리고 하나 또는 그 이상의 샤프론 단백질을 과다발현하는 플라스미드로 형질전

환된 대장균 (*E. coli*) 군주가 본 출원의 항체를 인코딩하는 발현 시스템에서 숙주 세포로서 이용될 수 있다.

[0342] d) 단백질 정제

[0343] 본원에서 생산된 항체는 추가 검정 및 이용을 위해 실제로 균질한 제조물을 획득하기 위해 더욱 정제된다. 당해 분야에서 공지된 표준 단백질 정제 방법이 이용될 수 있다. 다음의 절차는 적합한 정제 절차의 예시이다: 면역친화성 또는 이온-교환 칼럼에서 분별, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 또는 양이온-교환 수지, 예를 들면, DEAE에서 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE, 황산암모늄 침전, 그리고 예로서, 세파텍스 G-75를 이용한 겔 여과.

[0344] 한 양상에서, 고체상 위에 고정된 단백질 A가 본 출원의 Fc 영역을 포함하는 항체의 면역친화성 정제에 이용된다. 단백질 A는 항체의 Fc 영역에 높은 친화성으로 결합하는, 황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*)으로부터 41kD 세포 벽 단백질이다. Lindmark *et al* (1983) *J. Immunol. Meth.* 62:1-13. 단백질 A가 고정되는 고체상은 바람직하게는 유리 또는 실리카 표면을 포함하는 칼럼, 더욱 바람직하게는 제어된 구멍 유리 칼럼 또는 규산 칼럼이다. 일부 적용에서, 칼럼은 오염체의 비특이적 부착을 예방하기 위한 시도에서, 시약, 예를 들면, 글리세롤로 코팅되었다. 고체상은 이후, 고체상에 비특이적으로 결합된 오염체를 제거하기 위해 세척된다. 최종적으로, 관심되는 항체는 용리에 의해 고체상으로부터 회수된다.

[0345] 4. 진핵 세포에서 재조합 생산

[0346] 진핵 발현을 위해, 벡터 성분은 일반적으로, 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: 신호 서열, 복제 기점, 하나 또는 그 이상의 마커 유전자, 인핸서 요소, 프로모터, 그리고 전사 종결 서열.

[0347] a) 신호 서열 성분

[0348] 또한, 진핵 숙주에서 이용을 위한 벡터는 신호 서열, 또는 성숙 단백질 또는 폴리펩티드의 N 말단에서 특정한 개열 부위를 갖는 다른 폴리펩티드를 인코딩하는 삽입물일 수 있다. 선별된 이중성 신호 서열은 바람직하게는, 숙주 세포에 의해 인식되고 처리되는 (다시 말하면, 신호 펩티드분해효소에 의해 개열되는) 것이다. 포유류 세포 발현에서, 포유류 신호 서열뿐만 아니라 바이러스 분비성 리더, 예를 들면, 단순 포진 gD 신호가 가용하다.

[0349] 이런 전구체 영역에 대한 DNA는 본 출원의 항체를 인코딩하는 DNA에 해독틀 안에서 결합된다.

[0350] b) 복제 기점

[0351] 일반적으로, 복제 기점 성분은 포유류 발현 벡터의 경우에 필요하지 않다 (SV40 기원은 단지 이것이 초기 프로모터를 내포하기 때문에, 전형적으로 이용될 수 있다).

[0352] c) 선별 유전자 성분

[0353] 발현 및 클로닝 벡터는 선별가능 마커로 또한 명명되는 선별 유전자를 내포할 수 있다. 전형적인 선별 유전자는 (a) 항생제 또는 다른 독소, 예를 들면, 암피실린, 네오마이신, 메토폭사트, 또는 테트라사이클린에 대한 내성을 부여하거나, (b) 영양요구성 결함을 보완하거나, 또는 (c) 복합 배지로부터 가용하지 않은 결정적인 영양소를 공급하는 (가령, 바실루스의 경우에 D-알라닌 라세미화효소를 인코딩하는 유전자) 단백질을 인코딩한다.

[0354] 선별 계획의 한 가지 실례는 숙주 세포의 성장을 정지시키는 약물을 활용한다. 이중성 유전자로 성공적으로 형질전환되는 세포는 약제 내성을 부여하는 단백질을 생산하고, 그리고 따라서, 선별 섭생에서 생존한다. 이런 우성 선별의 실례는 약물 네오마이신, 마이코페놀산 및 히그로마이신을 이용한다.

[0355] 포유류 세포에 대한 적합한 선별가능 마커의 다른 실례는 본 출원의 항체를 인코딩하는 핵산을 흡수하는데 적격한 세포의 확인을 할 수 있게 하는 것들, 예를 들면, DHFR, 티미딘 키나아제, 메탈로티오네인-I 및 -II, 바람직하게는 영양류 메탈로티오네인 유전자, 아데노신 탈아미노효소, 오르니틴 탈카르복실화효소 등이다.

[0356] 가령, DHFR 선별 유전자로 형질전환된 세포는 먼저 DHFR의 경쟁 길항제인 메토폭사트 (Mtx)를 내포하는 배양 배지에서 모든 형질전환체를 배양함으로써 확인된다. 야생형 DHFR이 이용될 때 적절한 숙주 세포는 DHFR 활성에서 결함성인 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포주 (가령, ATCC CRL-9096)이다.

[0357] 대안으로, 폴리펩티드 인코딩-DNA 서열, 야생형 DHFR 단백질, 그리고 다른 선별가능 마커, 예를 들면, 아미노글리코시드 3'-인산전달효소 (APH)로 형질전환된 또는 공동형질전환된 숙주 세포 (특히, 내인성 DHFR을 내포하는 야생형 숙주)는 선별가능 마커, 예를 들면, 아미노글리코시드 항균제, 예를 들면, 카나마이신, 네오마이신, 또

는 G418에 대한 선별 작용제를 내포하는 배지에서 세포 성장에 의해 선별될 수 있다. U.S. 특허 번호 4,965,199를 참조한다.

[0358] **d) 프로모터 성분**

[0360] 발현 및 클로닝 벡터는 통상적으로, 숙주 생명체에 의해 인식되고 원하는 폴리펩티드 서열을 인코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결되는 프로모터를 내포한다. 사실상 모든 진핵 유전자가 전사가 시작되는 부위로부터 대략 25 내지 30개 염기 상류에 위치한 AT-풍부한 영역을 갖는다. 많은 유전자의 전사의 시작으로부터 70 내지 80개 염기 상류에서 발견되는 다른 서열은 CNCAAT 영역인데, 여기서 N은 임의의 뉴클레오티드일 수 있다. 대부분의 진핵 유전자의 3' 단부에는 AATAAA 서열이 있는데, 이것은 코딩 서열의 3' 단부에 폴리 A 꼬리의 부가를 위한 신호일 수 있다. 이들 모든 서열은 진핵 발현 벡터 내로 삽입될 수 있다.

[0361] 원핵 숙주에서 이용하기 적합한 다른 프로모터는 phoA 프로모터, -락타마아제 및 락토오스 프로모터 시스템, 알칼리 인산분해효소 프로모터, 트립토판 (trp) 프로모터 시스템, 그리고 하이브리드 프로모터, 예를 들면, tac 프로모터를 포함한다. 하지만, 다른 공지된 세균 프로모터가 적합하다. 세균 시스템에서 이용을 위한 프로모터는 또한, 항체를 인코딩하는 DNA에 작동가능하게 연결된 샤인 달가노 (S.D.) 서열을 내포할 것이다.

[0362] 포유류 숙주 세포에서 벡터로부터 폴리펩티드 전사는 예로서, 바이러스, 예를 들면, 폴리오마 바이러스, 계두바이러스, 아데노바이러스 (가령, 아데노바이러스 2), 소 유두종 바이러스, 조류 육종 바이러스, 시토메갈로바이러스, 레트로바이러스, 간염-B 바이러스 및 가장 바람직하게는 유인원 바이러스 40 (SV40)의 유전체로부터, 이중성 포유류 프로모터, 예를 들면, 액틴 프로모터 또는 면역글로불린 프로모터로부터, 열 충격 프로모터로부터 획득된 프로모터에 의해 제어되는데, 단서로서 이런 프로모터는 숙주 세포 시스템과 양립해야 한다.

[0363] SV40 바이러스의 초기 및 후기 프로모터는 SV40 바이러스 복제 기점을 또한 내포하는 SV40 제한 단편으로서 편의하게 획득된다. 인간 시토메갈로바이러스의 극초기 프로모터는 HindIII E 제한 단편으로서 편의하게 획득된다. 소 유두종 바이러스를 벡터로서 이용하여 포유류 숙주에서 DNA를 발현하기 위한 시스템은 U.S. 특허 번호 4,419,446에서 개시된다. 이러한 시스템의 변형은 U.S. 특허 번호 4,601,978에서 설명된다. 단순 헤르페스 바이러스로부터 티미딘 키나아제 프로모터의 제어 하에 생쥐 세포에서 인간 인터페론 cDNA의 발현에 관해 Reyes *et al.*, *Nature*, 297:598-601 (1982)을 또한 참조한다. 대안으로, 라우스 육종 바이러스 긴 말단 반복이 프로모터로서 이용될 수 있다.

[0364] **e) 인핸서 요소 성분**

[0365] 고등 진핵생물에 의한 본 출원의 항체를 인코딩하는 DNA의 전사는 종종, 인핸서 서열을 벡터 내로 삽입함으로써 증가된다. 포유류 유전자 (글로빈, 엘라스타아제, 알부민, α -태아단백질 및 인슐린)로부터 많은 인핸서 서열이 현재 알려져 있다. 하지만, 전형적으로, 진핵 세포 바이러스로부터 인핸서가 이용될 것이다. 실례는 복제 기원의 후기 측면에서 SV40 인핸서 (bp 100-270), 시토메갈로바이러스 초기 프로모터 인핸서, 복제 기원의 후기 측면에서 폴리오마 인핸서, 그리고 아데노바이러스 인핸서를 포함한다. 진핵 프로모터의 활성화를 위한 증강 요소에 대해, Yaniv, *Nature* 297:17-18 (1982)을 또한 참조한다. 인핸서는 폴리펩티드 인코딩 서열의 위치 5' 또는 3'에서 벡터 내로 스플라이싱될 수 있지만, 바람직하게는 프로모터로부터 부위 5'에서 위치된다.

[0366] **f) 전사 종결 성분**

[0367] 진핵 숙주 세포 (효모, 균류, 곤충, 식물, 동물, 인간, 또는 다른 다세포 생물체로부터 유핵 세포)에서 이용되는 발현 벡터는 또한, 전사의 종결 및 mRNA 안정화에 필요한 서열을 내포할 것이다. 이런 서열은 통상적으로, 진핵 또는 바이러스 DNAs 또는 cDNAs의 5' 및 때때로 3' 비번역 영역으로부터 가용하다. 이들 영역은 폴리펩티드-인코딩 mRNA의 번역되지 않은 부분에서 폴리아데닐화된 단편으로서 전사된 뉴클레오티드 분절을 내포한다. 한 가지 유용한 전사 종결 성분은 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 영역이다. W094/11026 및 그 안에 개시된 발현 벡터를 참조한다.

[0368] **g) 숙주 세포의 선별 및 형질전환**

[0369] 본원에서 벡터에서 DNA를 클로닝하거나 또는 발현하는데 적합한 숙주 세포는 척추동물 숙주 세포를 비롯하여, 본원에서 설명된 고등 진핵생물 세포를 포함한다. 배양 중인 (조직 배양) 척추동물 세포의 증식은 일과적인 절차가 되고 있다. 유용한 포유류 숙주 세포주의 실례는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 라인 (COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 라인 (현탁 배양에서 성장을 위해 하위클로닝된 293 또는 293 세포, Graham

et al., *J. Gen. Virol.*, 36:59 (1977)); 아기 햄스터 신장 세포 (BHK, ATCC CCL 10); 중국 햄스터 난소 세포 /-DHFR (CHO 세포, Urlaub *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); 생쥐 세르톨리 세포 (TM4, Mather, *Biol. Reprod.*, 23:243-251 (1980)); 원숭이 신장 세포 (CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76, ATCC CRL-1587); 인간 경부 암종 세포 (HELA, ATCC CCL 2); 개 신장 세포 (MDCK, ATCC CCL 34); 버팔로 쥐 간 세포 (BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐 세포 (W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포 (Hep G2, HB 8065); 생쥐 유방 종양 (MMT 060562, ATCC CCL51); TR1 세포 (Mather *et al.*, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)); MRC 5 세포; FS4 세포; 및 인간 간암 라인 (Hep G2)이다.

[0370] 숙주 세포는 항체 생산을 위해 전술한 발현 또는 클로닝 벡터로 형질전환되고, 그리고 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선별하거나, 또는 원하는 서열을 인코딩하는 유전자를 증폭하는데 타당하면 변형된 전통적인 영양 배지에서 배양된다.

[0371] h) 숙주 세포 배양

[0372] 본 출원의 항체를 생산하는데 이용되는 숙주 세포는 다양한 배지에서 배양될 수 있다. 상업적으로 가용한 배지, 예를 들면, Ham's F10 (Sigma), 최소 필수 배지 ((MEM), (Sigma), RPMI-1640 (Sigma) 및 Dulbecco의 변형된 Eagle 배지 ((DMEM), Sigma)가 숙주 세포를 배양하는데 적합하다. 이에 더하여, Ham *et al.*, *Meth. Enz.* 58:44 (1979), Barnes *et al.*, *Anal. Biochem.* 102:255 (1980), U.S. 특허 번호 4,767,704; 4,657,866; 4,927,762; 4,560,655; 또는 5,122,469; WO 90/03430; WO 87/00195; 또는 U.S. Pat. Re. 30,985에서 설명된 배지 중에서의 한 가지가 숙주 세포를 위한 배양 배지로서 이용될 수 있다. 임의의 이들 배지는 필요에 따라, 호르몬 및/또는 다른 성장 인자 (가령, 인슐린, 트랜스페린, 또는 표피 성장 인자), 염 (가령, 염화나트륨, 칼슘, 마그네슘 및 인산염), 완충액 (가령, HEPES), 뉴클레오티드 (가령, 아데노신 및 티미딘), 항생제 (가령, GENTAMYCIN™ 약물), 미량 원소 (통상적으로 마이크로몰 범위의 최종 농도에서 존재하는 무기 화합물로서 규정됨), 그리고 글루코오스 또는 동등한 에너지 공급원으로 보충될 수 있다. 임의의 다른 필요한 보충물 또한, 당업자에게 공지될 적절한 농도에서 포함될 수 있다. 배양 조건, 예를 들면, 온도, pH 등은 발현을 위해 선별된 숙주 세포에서 기존에 이용된 것들이고, 그리고 당업자에게 명백할 것이다.

[0373] i) 단백질 정제

[0374] 제조할 기술을 이용할 때, 항체는 세포내에서 생산되거나, 원형질막주위 공간에서 생산되거나, 또는 배지 내로 직접적으로 분비될 수 있다. 항체가 세포내에서 생산되면, 첫 번째 단계로서, 숙주 세포 또는 용해된 단편의 미립자 조직과편은 예로서, 원심분리 또는 한외여과에 의해 제거된다. Carter *et al.*, *Bio/Technology* 10:163-167 (1992)은 대장균 (*E. coli*)의 원형질막주위 공간으로 분비되는 항체를 분리하기 위한 절차를 설명한다. 간단히 말하면, 세포 페이스트는 아세트산나트륨 (pH 3.5), EDTA 및 페닐메틸설포닐 플루오르화물 (PMSF)의 존재에서 약 30 분에 걸쳐 해동된다. 세포 조직과편은 원심분리에 의해 제거될 수 있다. 항체가 배지 내로 분비되는 경우에, 이런 발현 시스템으로부터 상층액은 일반적으로 먼저, 상업적으로 가용한 단백질 농축 필터, 예를 들면, Amicon 또는 Millipore Pellicon 한외여과 단위를 이용하여 농축된다. 단백질분해효소 저해제, 예를 들면, PMSF가 단백질분해를 저해하기 위해 임의의 전술한 단계에 포함될 수 있고, 그리고 항생제가 우발적인 오염체의 성장을 예방하기 위해 포함될 수 있다.

[0375] 세포로부터 제조된 단백질 조성물은 예로서, 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전기이동, 투석 및 친화성 크로마토그래피를 이용하여 정제될 수 있는데, 친화성 크로마토그래피가 바람직한 정제 기술이다. 친화성 리간드로서 단백질 A의 적합성은 항체 내에 존재하는 임의의 면역글로불린 Fc 도메인의 중 및 아이소타입에 의존한다. 단백질 A는 1, 2, 또는 4개 중쇄를 내포하는 인간 면역글로불린에 근거되는 항체를 정제하는데 이용될 수 있다 (Lindmark *et al.*, *J. Immunol. Meth.* 62:1-13 (1983)). 단백질 G가 모든 생쥐 아이소타입 및 인간 3에 대해 권장된다 (Guss *et al.*, *EMBO J.* 5:1567-1575 (1986)). 친화성 리간드가 부착되는 매트릭스는 수시로 아가로오스이지만, 다른 매트릭스도 가능하다. 기계적으로 안정된 매트릭스, 예를 들면, 제어된 구멍 유리 또는 폴리(스티렌-디비닐)벤젠은 아가로오스로 달성될 수 있는 것보다 더욱 빠른 유속 및 더욱 짧은 처리 시간을 허용한다. 항체가 C₃ 도메인을 포함하는 경우에, Bakerbond ABXTMresin (J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.)이 정제에 유용하다. 단백질 정제를 위한 다른 기술, 예를 들면, 이온-교환 칼럼에서 분별, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카에서 크로마토그래피, 헤파린 SEPHAROSE™에서 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지 (가령, 폴리아스파르트산 칼럼)에서 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE 및 황산암모늄 침전 역시 회수되는 항체에 따라 가능하다.

[0376] 임의의 예비적 정제 단계(들) 이후에, 관심되는 항체 및 오염체를 포함하는 혼합물은 약 2.5-4.5 사이의 pH에서

용리 완충액을 이용한 낮은 pH 소수성 상호작용 크로마토그래피에 종속되고, 바람직하게는 낮은 염 농도 (가령, 약 0-0.25M 염)에서 수행될 수 있다.

[0377] 면역접합체

[0378] 일부 구체예에서, 본 출원은 또한, 하나 또는 그 이상의 세포독성 작용제, 예를 들면, 화학요법 작용제 또는 약물, 성장 저해성 작용제, 독소 (가령, 단백질 독소, 세균, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적으로 활성 독소, 또는 이들의 단편), 또는 방사성 동위원소에 접합된 본원에서 설명된 임의의 항체 (가령, 단일-도메인 항체)를 포함하는 면역접합체를 제공한다.

[0379] 일부 구체예에서, 면역접합체는 항체-약물 접합체 (ADC)인데, 여기서 항체는 메이탄시노이드 (U.S. 특허 번호 5,208,020, 5,416,064 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1을 참조한다); 아우리스타틴, 예를 들면, 모노메틸라우리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF (MMAE 및 MMAF) (U.S. 특허 번호 5,635,483 및 5,780,588 및 7,498,298을 참조한다); 둘라스타틴; 칼리키아마이신 또는 이의 유도체 (U.S. 특허 번호 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001 및 5,877,296; Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993); 및 Lode et al., *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)을 참조한다); 안트라사이클린, 예를 들면, 다우노마이신 또는 독소루비신 (Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005); Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002); King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002); 및 U.S. 특허 번호 6,630,579를 참조한다); 메토트렉사트; 빈데신; 타산, 예를 들면, 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀 및 오르타탁셀; 트리코테셀; 및 CC1065를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 하나 또는 그 이상의 약물에 접합된다.

[0380] 일부 구체예에서, 면역접합체는 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 사슬 (녹농균 (*Pseudomonas aeruginosa*)으로부터), 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데신 A 사슬, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디 (*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나 (*Phytolaca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모디카 차란티아 (*Momordica charantia*) 저해제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 (*sapaonaria officinalis*) 저해제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테셀을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 효소적으로 활성 독소 또는 이의 단편에 접합된 본원에서 설명된 바와 같은 항체를 포함한다.

[0381] 일부 구체예에서, 면역접합체는 방사접합체를 형성하기 위해 방사성 원자에 접합된 본원에서 설명된 바와 같은 항체를 포함한다. 다양한 방사성 동위원소가 방사접합체의 생산에 가용하다. 실례는 ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{212}Pb 및 Lu의 방사성 동위원소를 포함한다. 방사접합체가 검출에 이용될 때, 이것은 신티그래피 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들면, tc99m 또는 I123, 또는 핵 자기 공명 (NMR) 영상화 (자기 공명 영상법, mri로서 또한 알려져 있음)를 위한 스핀 표지, 예를 들면, 요오드-123 어게인, 요오드-131, 인듐-111, 플루오르-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망간 또는 철을 포함할 수 있다.

[0382] 항체 및 세포독성 작용제의 접합체는 다양한 이중기능성 단백질 연계 작용제, 예를 들면, N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오) 프로피온산염 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카복실산염 (SMCC), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이중기능성 유도체 (가령, 디메틸 아디피미데이트 HCl), 활성 에스테르 (가령, 디숙신이미딜 수베르산염), 알데히드 (가령, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (가령, 비스 (p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (가령, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (가령, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트) 및 비스-활성 플루오르 화합물 (가령, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 이용하여 만들어질 수 있다. 가령, 리신 면역독소는 Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987)에서 설명된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지화된 1-이소티오시아나토벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사성뉴클레오타이드의 접합을 위한 예시적인 킬레이트화제이다. W094/11026을 참조한다. 링커는 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "개열가능한 링커"일 수 있다. 가령, 산-불안정 링커, 펩티드분해효소-민감성 링커, 광불안정 링커, 디메틸 링커 또는 이황화물-내포 링커 (Chari et al., *Cancer Res.* 52:127-131 (1992); U.S. 특허 번호 5,208,020)가 이용될 수 있다.

[0383] 본원에서 면역접합체 또는 ADCs는 상업적으로 가용한 (가령, Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A로부터) BMPs, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술포-EMCS, 술포-GMBS, 술포-KMUS, 술포-MBS, 술포-SIAB, 술포-SMCC 및 술포-SMPB, 그리고 SVSB (숙신이미딜-(4-비닐술

폰)벤조에이트)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 교차연결제 시약으로 제조된 이와 같은 접합체를 명시적으로 예기하지만, 이들에 한정되지 않는다.

[0384] **진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물**

[0385] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 임의의 항체 (가령, 단일-도메인 항체)는 생물학적 표본에서 상응하는 항원 (가령, CD19, CD20, BCMA, 또는 CD38)의 존재를 검출하는데 유용하다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "검출하는"은 정량적 또는 정성적 검출을 포괄한다. 일정한 구체예에서, 생물학적 표본은 생물학적 기원의 혈액, 혈청 또는 다른 액체 표본이다. 일부 구체예에서, 생물학적 표본은 세포 또는 조직을 포함한다.

[0386] 일부 구체예에서, 진단 또는 검출의 방법에서 이용을 위한 항-CD19 항체 (가령, 본원에서 설명된 항-CD19 단일-도메인 항체 중에서 한 가지)가 제공된다. 추가의 양상에서, 생물학적 표본에서 CD19의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 일정한 구체예에서, 상기 방법은 생물학적 표본에서 CD19 단백질의 존재를 검출하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, CD19는 인간 CD19이다. 일정한 구체예에서, 상기 방법은 CD19에 항-CD19 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 생물학적 표본을 본원에서 설명된 바와 같은 항-CD19 항체와 접촉시키고, 그리고 항-CD19 항체 및 CD19 사이에 복합체가 형성되는지의 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이런 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 일부 구체예에서, 항-CD19 항체는 예로서, CD19가 환자의 선별을 위한 생물마커인 경우에, 항-CD19 항체를 이용한 요법에 적절한 개체를 선별하는데 이용된다.

[0387] 일부 구체예에서, 진단 또는 검출의 방법에서 이용을 위한 항-CD20 항체 (가령, 본원에서 설명된 항-CD20 단일-도메인 항체 중에서 한 가지)가 제공된다. 추가의 양상에서, 생물학적 표본에서 CD20의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 일정한 구체예에서, 상기 방법은 생물학적 표본에서 CD20 단백질의 존재를 검출하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, CD20은 인간 CD20이다. 일정한 구체예에서, 상기 방법은 CD20에 항-CD20 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 생물학적 표본을 본원에서 설명된 바와 같은 항-CD20 항체와 접촉시키고, 그리고 항-CD20 항체 및 CD20 사이에 복합체가 형성되는지의 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이런 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 예로서, CD20이 환자의 선별을 위한 생물마커인 경우에, 항-CD20 항체를 이용한 요법에 적절한 개체를 선별하는데 이용된다.

[0388] 일부 구체예에서, 진단 또는 검출의 방법에서 이용을 위한 항-BCMA 항체 (가령, 본원에서 설명된 항-BCMA 단일-도메인 항체 중에서 한 가지)가 제공된다. 추가의 양상에서, 생물학적 표본에서 BCMA의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 일정한 구체예에서, 상기 방법은 생물학적 표본에서 BCMA 단백질의 존재를 검출하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, BCMA는 인간 BCMA이다. 일정한 구체예에서, 상기 방법은 BCMA에 항-BCMA 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 생물학적 표본을 본원에서 설명된 바와 같은 항-BCMA 항체와 접촉시키고, 그리고 항-BCMA 항체 및 BCMA 사이에 복합체가 형성되는지의 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이런 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 항체는 예로서, BCMA가 환자의 선별을 위한 생물마커인 경우에, 항-BCMA 항체를 이용한 요법에 적절한 개체를 선별하는데 이용된다.

[0389] 일부 구체예에서, 진단 또는 검출의 방법에서 이용을 위한 항-CD38 항체 (가령, 본원에서 설명된 항-CD38 단일-도메인 항체 중에서 한 가지)가 제공된다. 추가의 양상에서, 생물학적 표본에서 CD38의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 일정한 구체예에서, 상기 방법은 생물학적 표본에서 CD38 단백질의 존재를 검출하는 것을 포함한다. 일정한 구체예에서, CD38은 인간 CD38이다. 일정한 구체예에서, 상기 방법은 CD38에 항-CD38 항체의 결합을 허용하는 조건 하에 생물학적 표본을 본원에서 설명된 바와 같은 항-CD38 항체와 접촉시키고, 그리고 항-CD38 항체 및 CD38 사이에 복합체가 형성되는지의 여부를 검출하는 것을 포함한다. 이런 방법은 시험관내 또는 생체내 방법일 수 있다. 일부 구체예에서, 항-CD38 항체는 예로서, CD38이 환자의 선별을 위한 생물마커인 경우에, 항-CD38 항체를 이용한 요법에 적절한 개체를 선별하는데 이용된다.

[0390] 일정한 구체예에서, 표지화된 항체 (가령, 항-CD19, 항-CD20, 항-BCMA, 또는 항-CD38 단일-도메인 항체)가 제공된다. 표지는 직접적으로 검출되는 표지 또는 모이어티 (가령, 형광, 색소생산, 전자 밀도, 화학발광 및 방사성 표지)뿐만 아니라 예로서, 효소 반응 또는 분자 상호작용을 통해 간접적으로 검출되는 모이어티, 예를 들면, 효소 또는 리간드를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 예시적인 표지는 염료 전구체를 산화시키는 과산화수소를 이용하는 효소, 예를 들면, HRP, 락토펙시다아제 또는 마이크로펙시다아제, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리오파지 표지, 안정된 유리 라디칼 등과 연계된 방사성 동위원소 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H 및 ^{131}I , 형광단, 예를 들면, 희토류 킬레이트 또는 플루오레세인 및 이의 유도체, 로다민 및 이의 유도체, 단실, 옴벨리페론, 루시페라아제, 예를 들면, 개똥벌레 루시페라아제 및 세균 루시페라아제 (U.S. 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디히드로프타라진딘, 양고추냉이 과산화효소 (HRP), 알칼리 인산분해효소, β -갈락토시다아제, 글루코아밀라

아제, 라이소자임, 사카라이드 옥시다아제, 예를 들면, 글루코오스 옥시다아제, 갈락토오스 옥시다아제 및 글루코오스-6-인산염 탈수소효소, 헤테로환상 옥시다아제, 예를 들면, 요산분해효소 및 크산틴 옥시다아제를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0391] III. 키메라 항원 수용체

[0392] 본 출원의 한 가지 양상은 하나 또는 그 이상의 단일-도메인 항체 (가령, V_H Hs)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 제공한다. 섹션 II에서 설명된 단일-도메인 항체 중에서 한 가지가 본원에서 설명된 CARs에서 이용될 수 있다. 하나 또는 그 이상의 V_H H 도메인을 포함하는 예시적인 CARs (다시 말하면, V_H H-기초된 CARs)는 도면 1a-1d에서 예시되고, 그리고 scFvs를 포함하는 전통적인 CARs (다시 말하면, scFv-기초된 CARs)와 비교된다. 당업자는 도면 1a-1d의 예시적인 CARs에서 V_H H 도메인이 다른 sdAbs로 치환될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

[0393] 일부 구체예에서, (a) 항원 (가령, 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CAR은 다가, 예를 들면, 이가 또는 삼가이다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다.

[0394] 특정한 표적의 키메라 항원 수용체

[0395] 일부 구체예에서, 본 출원은 본원에서 설명된 항-CD19, 항-CD20, 항-BCMA, 또는 항-CD38 단일-도메인 항체 중에서 한 가지를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함하는 CARs를 제공한다. CARs는 단일특이적 또는 다중특이적 (가령, 이중특이적 또는 더욱 높은 숫자의 특이성)일 수 있고, 그리고 CARs는 일가 또는 다가 (가령, 이가, 삼가, 또는 더욱 높은 숫자의 원자가)일 수 있다. 예시적인 단일특이적 키메라 항원 수용체, 이들의 예시적인 서열, 구조체 및 벡터의 목록은 표 4에서 도시된다.

[0396] "III. 키메라 항원 수용체" 섹션에서 열거된 표 4, 5 및 6은 다음의 약어를 이용한다: Ex.: 예시; Vec.: 벡터; AA: CAR의 아미노산 서열; NA: CAR의 핵산 서열; SP: 신호 펩티드; Extracellular: 세포의 항원 결합 도메인; sdAb: 단일-도메인 항체; TM: 막경유 도메인; CO1: 동시자극성 신호전달 도메인 1; CO2: 동시자극성 신호전달 도메인 2; Prim.: 일차 세포내 신호전달 도메인. 도메인은 CAR 폴리펩티드의 N 말단으로부터 C 말단으로 도메인의 순서에 상응하는 각 열의 왼쪽으로부터 오른쪽으로 열거된다.

[0397] 1. CD19 CAR

[0398] 일부 구체예에서, (a) 항-CD19 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내

신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD19를 표적으로 하는 CAR (본원에서 "CD19 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 다가, 예를 들면, 이가 또는 삼가이다.

[0399] 일부 구체예에서, (a) 항-CD19 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 CAR이 제공되고, 여기서 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 1의 아미노산 서열, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 240의 아미노산 서열을 포함하는 FR1, 서열 번호: 241의 아미노산 서열을 포함하는 FR2, 서열 번호: 242의 아미노산 서열을 포함하는 FR3 및/또는 서열 번호: 243의 아미노산 서열을 포함하는 FR4를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 다가, 예를 들면, 이가 또는 삼가이다.

[0400] 일부 구체예에서, 서열 번호: 248의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 CAR이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 248의 아미노산 서열을 포함하는 CD19 CAR이 제공된다. 또한, 서열 번호: 248의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.

[0401] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 CD19 CARs 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 250의 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 250의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA이다. 일부 구체예에서, 앞서 설명된 CD19 CARs를 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스 벡터이다.

[0402] 2. CD20 CAR

[0403] 일부 구체예에서, (a) 항-CD20 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD20을 표적으로 하는 CAR (본원에서 "CD20 CAR"로서 또한

지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CD20 CAR는 서열 번호: 249의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 다가, 예를 들면, 이가 또는 삼가이다.

[0404] 일부 구체예에서, (a) 항-CD20 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD20 CAR이 제공되고, 여기서 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 4의 아미노산 서열, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 244의 아미노산 서열을 포함하는 FR1, 서열 번호: 245의 아미노산 서열을 포함하는 FR2, 서열 번호: 246의 아미노산 서열을 포함하는 FR3 및/또는 서열 번호: 247의 아미노산 서열을 포함하는 FR4를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 일가이다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 서열 번호: 249의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 다가, 예를 들면, 이가 또는 삼가이다.

[0405] 일부 구체예에서, 서열 번호: 249의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 CD20 CAR이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 249의 아미노산 서열을 포함하는 CD20 CAR이 제공된다. 또한, 서열 번호: 249의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.

[0406] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 CD20 CARs 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 251의 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 251의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA이다. 일부 구체예에서, 앞서 설명된 CD20 CARs를 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스 벡터이다.

[0407] 3. BCMA CAR

[0408] 일부 구체예에서, (a) 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, BCMA를 표적으로 하는 CAR (본원에서 "BCMA CAR"로서 또한

지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치된 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치된 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 일가이다.

- [0409] 일부 구체예에서, (a) 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA CAR이 제공되고, 여기서 항-BCMA sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0410] (1) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0411] (2) 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0412] (3) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0413] (4) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0414] (5) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0415] (6) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0416] (7) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0417] (8) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0418] (9) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0419] (10) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0420] (11) 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0421] 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 78-88로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28,

CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호 전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호 전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호 전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 일가이다.

[0422] 일부 구체예에서, 서열 번호: 152-162 및 257-259로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA CAR이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 152-162 및 257-259로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 BCMA CAR이 제공된다. 서열 번호: 152-162 및 257-259로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 역시 제공된다.

[0423] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 BCMA CARs 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 175-185 및 261-263으로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 175-185 및 261-263으로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA이다. 일부 구체예에서, 앞서 설명된 BCMA CARs를 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스 벡터이다.

[0424] 4. CD38 CAR

[0425] 일부 구체예에서, (a) 항-CD38 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD38을 표적으로 하는 CAR (본원에서 "CD38 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호 전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호 전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호 전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 일가이다.

[0426] 일부 구체예에서, (a) 항-CD38 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD38 CAR이 제공되고, 여기서 항-CD38 sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:

[0427] (1) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

[0428] (2) 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고

서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

- [0429] (3) 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0430] (4) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0431] (5) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0432] (6) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0433] (7) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0434] (8) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0435] (9) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0436] (10) 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0437] (11) 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0438] (12) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0439] 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 서열 번호: 89-100으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 일가이다.
- [0440] 일부 구체예에서, 서열 번호: 163-174 및 260으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 CD38 CAR이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 163-174 및 260으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CD38 CAR이 제공된다. 서열 번호: 163-174 및 260으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 역시 제공된다.
- [0441] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 CD38 CARs 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 186-197 및 264로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 단리

된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 186-197 및 264로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA이다. 일부 구체예에서, 앞서 설명된 CD38 CARs를 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스 벡터이다.

5. CD22 CAR

일부 구체예에서, (a) 항-CD22 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD22를 표적으로 하는 CAR (본원에서 "CD22 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD22 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD22 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD22 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD22 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, CD22 CAR은 일가이다.

표 4. 예시적인 단일특이적, 일가 CARs.

표 4

실례 벡터 또는 CAR 명칭	실례 AA 서열 번호	실례 NA 서열 번호	SP	세포외 sdAb	힌지	TM	세포내 신호전달		
							CO1	CO2	Prim.
BCMA CAR									
PLVX-hEF1a-269A37346	152	175	CD8 α	269A37346	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37348	153	176	CD8 α	269A37348	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37917	154	177	CD8 α	269A37917	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37355	155	178	CD8 α	269A37355	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37915	156	179	CD8 α	269A37915	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37936	157	180	CD8 α	269A37936	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37953	158	181	CD8 α	269A37953	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37965	159	182	CD8 α	269A37965	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37972	160	183	CD8 α	269A37972	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37353	161	184	CD8 α	269A37353	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-269A37948	162	185	CD8 α	269A37948	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
GS15011 CAR	257	261	CD8 α	269A37346	CD8 α	CD8 α	CD137	NA	CD3 ζ
GS15019 CAR	258	262	CD8 α	269A37353	CD8 α	CD8 α	CD137	NA	CD3 ζ
GS15020 CAR	259	263	CD8 α	269A37917	CD8 α	CD8 α	CD137	NA	CD3 ζ
CD38 CAR									
PLVX-hEF1a-38A37333	163	186	CD8 α	38A37333	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37336	164	187	CD8 α	38A37336	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37699	165	188	CD8 α	38A37699	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37331	166	189	CD8 α	38A37331	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37717	167	190	CD8 α	38A37717	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ

PLVX-hEF1a-38A37719	168	191	CD8 α	38A37719	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37330	169	192	CD8 α	38A37330	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37334	170	193	CD8 α	38A37334	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37730	171	194	CD8 α	38A37730	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37340	172	195	CD8 α	38A37340	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37731	173	196	CD8 α	38A37731	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
PLVX-hEF1a-38A37326	174	197	CD8 α	38A37326	CD8 α	CD28	CD28	CD137	CD3 ζ
CD19 V _H H CAR	248	250	CD8 α	CD19 V _H H	CD8 α	CD28	CD28	NA	CD3 ζ
CD20 V _H H CAR	249	251	CD8 α	CD20 V _H H	CD8 α	CD28	CD28	NA	CD3 ζ
GSI5012 CAR	260	264	CD8 α	38A37717	CD8 α	CD8 α	CD137	NA	CD3 ζ

[0446] 다가 키메라 항원 수용체본 출원은 또한, 단일-도메인 항체를 포함하는 2개 또는 그 이상 (가령, 대략 2, 3, 4, 5, 6개, 또는 그 이상 중에서 한 가지)의 항원 결합 부위를 갖는 다가 CARs를 제공한다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 단일 항원을 표적으로 하고, 그리고 단일 항원에 대한 2개 또는 그 이상의 결합 부위를 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 하나 이상의 항원을 표적으로 하고, 그리고 다가 CAR은 최소한 하나의 항원에 대한 2개 또는 그 이상의 결합 부위를 포함한다. 동일한 항원에 특정한 결합 부위는 상기 항원의 동일한 에피토프에 결합할 수 있거나 또는 상기 항원의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 동일한 항원에 특정한 결합 부위는 동일하거나 상이한 단일-도메인 항체를 포함할 수 있다.

[0447] 일부 구체예에서, 본 출원은 (a) 항원 (가령, 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 복수 (가령, 대략 2, 3, 4, 5, 6개, 또는 그 이상 중에서 한 가지)의 단일-도메인 항체 (sdAbs)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 (가령, 이가, 삼가, 또는 더욱 높은 숫자의 원자가) 키메라 항원 수용체를 제공한다. 일부 구체예에서, 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 복수의 sdAbs는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 번역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 세포 외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다.

[0448] 일부 구체예에서, 본 출원은 (a) 항원 (가령, 종양 항원)의 첫 번째 에피토프에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 및 상기 항원의 두 번째 에피토프에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 (가령, 이가, 삼가, 또는 더욱 높은 숫자의 원자가) 키메라 항원 수용체를 제공하고, 여기서 첫 번째 에피토프 및 두 번째 에피토프는 상이하다. 일부 구체예에서, 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 단일-도메인 항체 및 두 번째 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86,

CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다.

[0449] 본원에서 설명된 다가 CARs는 상이한 항원 결합 부위에 의한 상승적 결합을 통해 다중결합 항원을 표적으로 하거나, 또는 항원에 대한 결합 친화성 또는 결합능을 증강하는데 특히 적합할 수 있다. 본원에서 설명된 임의의 단일-도메인 항체, 예를 들면, 항-CD19, 항-CD20, 항-BCMA, 또는 항-CD38 항체가 본원에서 설명된 다가 CARs의 세포의 항원 결합 도메인에서 이용될 수 있다. 예시적인 단일특이적 다가 키메라 항원 수용체, 이들의 예시적인 서열, 구조체 및 벡터의 목록은 표 5에서 도시된다.

[0450] 1. 다가 BCMA CAR

[0451] 일부 구체예에서, (a) 복수 (가령, 2, 3개, 또는 그 이상)의 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, BCMA를 표적으로 하는 다가 CAR (본원에서 "다가 BCMA CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 항-BCMA sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 삼가이다. 항-BCMA sdAbs 중에서 한 가지가 다가 BCMA CAR을 작제하는데 이용될 수 있다.

[0452] 일부 구체예에서, (a) 복수 (가령, 2, 3개, 또는 그 이상)의 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다가 BCMA CAR이 제공되고, 여기서 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 복수의 항-BCMA sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치

된 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 삼가이다.

[0453]

일부 구체예에서, (a) 첫 번째 항-BCMA sdAb 및 두 번째 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다가 BCMA CAR이 제공되고, 여기서 첫 번째 항-BCMA sdAb 및 두 번째 항-BCMA sdAb는 BCMA 상에서 상이한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA sdAb는 두 번째 항-BCMA sdAb의 N 말단에서 위치된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA sdAb는 두 번째 항-BCMA sdAb의 C 말단에서 위치된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA sdAb 및 두 번째 항-BCMA sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 삼가이다. 일부 구체예에서, 세포외 항원 결합 도메인은 첫 번째 및 두 번째 항-BCMA sdAb와 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 세 번째 항-BCMA sdAb를 더욱 포함한다. 항-BCMA sdAbs 중에서 한 가지가 다가 BCMA CAR을 작제하는데 이용될 수 있다.

[0454]

일부 구체예에서, (a) 첫 번째 항-BCMA sdAb 및 두 번째 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다가 BCMA CAR이 제공되고, 여기서 첫 번째 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 두 번째 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 87의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA sdAb는 두 번째 항-BCMA sdAb의 N 말단에서 위치된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA sdAb는 두 번째 항-BCMA sdAb의 C 말단에서 위치된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA sdAb 및 두 번째 항-BCMA sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 BCMA CAR은 이가이다.

[0455]

일부 구체예에서, 서열 번호: 198-199 및 265-270으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 다가 BCMA CAR이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 198-199 및 265-270

으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 다가 BCMA CAR이 제공된다. 서열 번호: 198-199 및 265-270으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 역시 제공된다.

[0456] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 다가 BCMA CARs 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 202-203 및 271-276으로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 202-203 및 271-276으로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA이다. 일부 구체예에서, 앞서 설명된 다가 BCMA CARs를 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스 벡터이다.

[0457] 2. 다가 CD38 CAR

[0458] 일부 구체예에서, (a) 복수 (가령, 2, 3개, 또는 그 이상)의 항-CD38 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD38을 표적으로 하는 다가 CAR (본원에서 "다가 CD38 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 항-CD38 sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8α 힌지 도메인, CD8α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 삼가이다. 항-CD38 sdAbs 중에서 한 가지가 다가 CD38 CAR을 작제하는데 이용될 수 있다.

[0459] 일부 구체예에서, (a) 복수의 항-CD38 sdAbs를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다가 CD38 CAR이 제공되고, 여기서 복수의 항-CD38 sdAbs 각각은 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 항-CD38 sdAbs 각각은 서열 번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 복수의 항-CD38 sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8α 힌지 도메인, CD8α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 삼가이다.

[0460] 일부 구체예에서, (a) 첫 번째 항-CD38 sdAb 및 두 번째 항-CD38 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다가 CD38 CAR이 제공되고, 여기서 첫 번째 항-

CD38 sdAb 및 두 번째 항-CD38 sdAb는 CD38 상에서 상이한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-CD38 sdAb는 두 번째 항-CD38 sdAb의 N 말단에서 위치된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-CD38 sdAb는 두 번째 항-CD38 sdAb의 C 말단에서 위치된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-CD38 sdAb 및 두 번째 항-CD38 sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 CD38 CAR은 삼가이다. 일부 구체예에서, 세포외 항원 결합 도메인은 첫 번째 및 두 번째 항-CD38 sdAb와 상이한 에피토프에 특이적으로 결합하는 세 번째 항-CD38 sdAb를 더욱 포함한다. 항-CD38 sdAbs 중에서 한 가지가 다가 CD38 CAR을 작제하는데 이용될 수 있다.

[0461] 일부 구체예에서, 서열 번호: 200 또는 서열 번호: 201의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 다가 CD38 CAR이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 200 또는 서열 번호: 201의 아미노산 서열을 포함하는 다가 CD38 CAR이 제공된다. 또한, 서열 번호: 200 또는 서열 번호: 201의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.

[0462] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 다가 CD38 CARs 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 204 또는 서열 번호: 205의 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 204 또는 서열 번호: 205의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA이다. 일부 구체예에서, 앞서 설명된 다가 CD38 CARs를 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스 벡터이다.

[0463] 3. 다른 예시적인 다가 CARs

[0464] 일부 구체예에서, (a) 복수 (가령, 2, 3개, 또는 그 이상)의 항-CD19 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD19를 표적으로 하는 다가 CAR (본원에서 "다가 CD19 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 항-CD19 sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CD19 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CD19 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CD19 CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 CD19 CAR은 삼가이다. 항-CD19 sdAbs 중에서 한 가지가 다가 CD19 CAR을 작제하는데 이용될 수 있다.

[0465] 일부 구체예에서, (a) 복수 (가령, 2, 3개, 또는 그 이상)의 항-CD20 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합

도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD20을 표적으로 하는 다가 CAR (본원에서 "다가 CD20 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 항-CD20 sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CD20 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CD20 CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 CD20 CAR은 삼가이다. 항-CD20 sdAbs 중에서 한 가지가 다가 CD20 CAR을 작제하는데 이용될 수 있다.

[0466]

일부 구체예에서, (a) 복수 (가령, 2, 3개, 또는 그 이상)의 항-CD22 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD22를 표적으로 하는 다가 CAR (본원에서 "다가 CD22 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD22 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 항-CD22 sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CD22 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CD22 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CD22 CAR은 이가이다. 일부 구체예에서, 다가 CD22 CAR은 삼가이다.

[0467]

표 5. 예시적인 단일특이적, 다가 CAR.

표 5

[0468]

CAR	실례 AA 서열 번호	실례 NA 서 열 번 호	SP	세포외 항원 결합 도메인					힌지	TM	세포내 신호전달	
				sdAb #1	링커 #1 서열 번 호	sdAb #2	링커 #2 서열 번 호	sdAb #3			CO1	Prim.
GSI501 4	198	202	CD8 α	269A373 46	144	269A373 46	NA	NA	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI501 5	199	203	CD8 α	269A373 46	144	269A373 46	144	269A373 46	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI501 6	200	204	CD8 α	38A3771 7	144	38A3771 7	NA	NA	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI501 7	201	205	CD8 α	38A3771 7	144	38A3771 7	144	38A3771 7	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ

GS1502 1	265	271	CD8 α	269A373 53	144	269A379 17	NA	NA	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GS1502 2	266	272	CD8 α	269A373 53	149	269A379 17	NA	NA	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GS1502 3	267	273	CD8 α	269A373 53	151	269A379 17	NA	NA	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GS1502 4	268	274	CD8 α	269A379 17	145	269A373 53	NA	NA	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GS1502 5	269	275	CD8 α	269A379 17	149	269A373 53	NA	NA	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GS1502 6	270	276	CD8 α	269A379 17	150	269A373 53	NA	NA	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ

[0469] 다중특이적 키메라 항원 수용체본 출원은 2개 또는 그 이상 (가령, 대략 2, 3, 4, 5, 6개, 또는 그 이상 중에서 한 가지)의 상이한 항원을 표적으로 하는 다중특이적 키메라 항원 수용체를 더욱 제공한다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 각 항원에 대한 하나의 항원 결합 부위를 갖는다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 최소한 하나의 항원에 대한 2개 이상의 항원 결합 부위를 갖는다. 각 항원 결합 부위는 단일-도메인 항체를 포함할 수 있다. 가령, 일부 구체예에서, 다중특이적 키메라 항원 수용체는 각각, 항원에 특이적으로 결합하는 2개의 상이한 sdAbs를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함하는 이중특이적 CAR이다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 각각, 항원에 특이적으로 결합하는 3개의 상이한 sdAbs를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함하는 삼중특이적 CAR이다.

[0470] 일부 구체예에서, (a) 첫 번째 항원 (가령, 첫 번째 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 두 번째 항원 (가령, 두 번째 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (CAR)가 제공되고, 여기서 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 상이하다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항원 및/또는 두 번째 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 단일-도메인 항체 및 두 번째 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인.

[0471] 표적화되는 원하는 항원에 따라, 본 출원의 CARs는 원하는 항원에 특이적인 적절한 단일-도메인 항체를 포함하도록 가공될 수 있다. 본원에서 설명된 항-CD19, 항-CD20, 항-BCMA, 또는 항-CD38 항체 중에서 임의의 한 가지 또는 그 이상이 본 출원의 CARs에서 세포외 항원 결합 도메인에 이용될 수 있다. 이들 단일-도메인 항체는 임의의 적절한 순서에서 배열될 수 있다. 가령, 첫 번째 단일-도메인 항체는 두 번째 단일-도메인 항체의 N 말단 또는 C 말단에서 융합된다. 적합한 펩티드 링커는 단일-도메인 항체 사이에 입체 장애를 방지하기 위해 상이한 단일-도메인 항체 사이에 배치될 수 있다. 예시적인 이중특이적 키메라 항원 수용체, 이들의 예시적인 서열, 구조 및 벡터의 목록은 표 6에서 도시된다.

[0472] 1. BCMA x CD38 CAR

[0473] 일부 구체예에서, 본 출원의 CAR은 BCMA 및 CD38을 동시에 표적으로 하는 이중특이적 CAR이다. 가령, BCMA 및 CD38은 다발성 골수종 세포에서 발현된 항원을 표적으로 하기 위한 후보로서 이용될 수 있다.

[0474] 일부 구체예에서, (a) BCMA에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 CD38에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, BCMA 및 CD38을 표적으로 하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (본원에서 "BCMA x CD38 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 단일-도메인 항체 및 두 번째 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인.

[0475] 일부 구체예에서, (a) 항-BCMA 단일-도메인 항체 및 항-CD38 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, BCMA 및 CD38을 표적으로 하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (본원에서 "BCMA x CD38 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공되고, 여기서 항-BCMA 단일-도메인 항체는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 항-CD38 항체는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb 및/또는 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAbs는 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAbs는 서열 번호: 93의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb 및 항-CD38 sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 항-CD38 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-BCMA는 항-CD38 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다.

[0476] 일부 구체예에서, N 말단으로부터 C 말단으로, CD8 α 신호 펩티드, 항-CD38 단일-도메인 항체, 펩티드 링커, 항

-BCMA 단일-도메인 항체, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA x CD38 CAR이 제공되고; 여기서 항-BCMA 단일-도메인 항체는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 항-CD38 항체는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 207-211로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA x CD38 CAR. 일부 구체예에서, 서열 번호: 207-211로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 BCMA x CD38 CAR이 제공된다. 서열 번호: 207-211로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 역시 제공된다.

[0477] 일부 구체예에서, N 말단으로부터 C 말단으로, CD8 α 신호 펩티드, 항-BCMA 단일-도메인 항체, 펩티드 링커, 항-CD38 단일-도메인 항체, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA x CD38 CAR이 제공되고; 여기서 항-BCMA 단일-도메인 항체는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 항-CD38 항체는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 212-216으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA x CD38 CAR. 일부 구체예에서, 서열 번호: 212-216으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 BCMA x CD38 CAR이 제공된다. 서열 번호: 212-216으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 역시 제공된다.

[0478] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 BCMA x CD38 CAR 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 218-227로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 218-227로 구성된 군에서 선택되는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA이다. 일부 구체예에서, 앞서 설명된 BCMA x CD38 CARs를 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스 벡터이다.

[0479] 2. CD19 x CD20 CAR

[0480] 일부 구체예에서, B 세포 분화 항원, 예를 들면, CD19 및 CD20은 B 세포 림프종에서 표적 항원에 대한 후보이다. 이들 항원 중에서 일부는 단일클론 항체를 이용한 수동 면역요법을 위한 표적으로서 이용되었지만 성공이 제한되었다. 일부 구체예에서, 본 출원의 CAR은 CD19 및 CD20을 동시에 표적으로 하는 이중특이적 CAR이다.

[0481] 일부 구체예에서, (a) CD19에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 CD20에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD19 및 CD20을 표적으로 하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (본원에서 "CD19 x CD20 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 단일-도메인 항체 및 두 번째 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노

산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인.

[0482] 일부 구체예에서, (a) 항-CD19 단일-도메인 항체 및 항-CD20 단일-도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD19 및 CD20을 표적으로 하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (본원에서 "CD19 x CD20 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공되고, 여기서 항-CD19 단일-도메인 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 항-CD20 항체는 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb 및/또는 항-CD20 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAbs는 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAbs는 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb 및 항-CD20 sdAb는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항-CD19는 항-CD20 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 146의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다.

[0483] 일부 구체예에서, N 말단으로부터 C 말단으로, CD8 α 신호 펩티드, 항-CD19 단일-도메인 항체, 펩티드 링커, 항-CD20 단일-도메인 항체, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 x CD20 CAR이 제공되고; 여기서 항-CD19 단일-도메인 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 여기서 항-CD20 항체는 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 146의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 206의 아미노산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 x CD20 CAR. 일부 구체예에서, 서열 번호: 206의 아미노산 서열을 포함하는 CD19 x CD20 CAR이 제공된다. 또한, 서열 번호: 206의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.

[0484] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 CD19 x CD20 CARs 중에서 한 가지를 인코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 일

부 구체예에서, 서열 번호: 217의 핵산 서열에 최소한 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성 중에서 한 가지를 갖는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 217의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 DNA이다. 일부 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA이다. 일부 구체예에서, 앞서 설명된 CD19 x CD20 CARs를 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들면, 렌티바이러스 벡터이다.

[0485]

현재, CD19를 표적으로 하는 면역요법은 임상 시험에서 주목할 만한 결과를 목격하였다. 단기 ALL 치료의 CD19 CAR-T 세포-기초된 임상 시험은 약 90% 완전 관해 효력을 달성할 수 있다. 하지만, 거의 10%의 환자는 몇 개월의 치료 후 재발하는 것으로 밝혀졌다. 주요 원인은 CD19가 B 세포의 형질 세포로의 성숙 동안 상실되고, 그리고 잔여 종양 세포가 CD19 항원 상실 도피 변이체를 생산한다는 것이었다. 본원에서 설명된 CD19 x CD20 CARs는 CD19 및 CD20 종양 표면 항원을 동시에 표적으로 할 수 있는데, 이것은 전신 T 세포 항종양 활성을 증가하고, 그리고 CAR 요법 후 백혈병 재발 중에서 최소한 30%를 유발한 표적 도피 현상을 감소시킬 수 있다.

[0486]

3. 다른 예시적인 다중특이적 CARs

[0487]

일부 구체예에서, (a) 항-CD19 단일-도메인 항체 및 항-CD22 단일-도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD19 및 CD22를 표적으로 하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (본원에서 "CD19 x CD22 CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb 및/또는 항-CD22 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD22 단일-도메인 항체 및 항-CD22 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD22 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD22 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 x CD22 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x CD22 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0488]

일부 구체예에서, (a) 항-CD19 단일-도메인 항체 및 항-BCMA 단일-도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는, CD19 및 BCMA를 표적으로 하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (본원에서 "CD19 x BCMA CAR"로서 또한 지칭됨)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb 및/또는 항-BCMA sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체 및 항-BCMA 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-BCMA sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-BCMA sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극

성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 x BCMA CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.

[0489]

표 6. 예시적인 이중특이적 CARs.

표 6

[0490]

CAR	실례 AA 서열 번호	실례 NA 서열 번호	SP	세포외 항원 결합 도메인			힌지	TM	CO1	인트라.
				sdAb #1	링커 서열 번호	sdAb#2				
CD19x CD20	206	217	CD8 α	CD19 V _H H	146	CD20V _H H	CD8 α	CD28	CD28	CD3 ζ
GSI5001	207	218	CD8 α	38A37717	144	269A37346	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5002	208	219	CD8 α	38A37717	145	269A37346	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5003	209	220	CD8 α	38A37717	146	269A37346	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5004	210	221	CD8 α	38A37717	147	269A37346	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5005	211	222	CD8 α	38A37717	148	269A37346	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5006	212	223	CD8 α	269A37346	144	38A37717	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5007	213	224	CD8 α	269A37346	145	38A37717	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5008	214	225	CD8 α	269A37346	146	38A37717	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5009	215	226	CD8 α	269A37346	147	38A37717	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ
GSI5010	216	227	CD8 α	269A37346	148	38A37717	CD8 α	CD8 α	CD137	CD3 ζ

[0491]

세포외 항원 결합 도메인본원에서 설명된 CARs의 세포외 항원 결합 도메인은 하나 또는 그 이상 (가령, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 또는 그 이상 중에서 한 가지)의 단일-도메인 항체를 포함한다. 단일-도메인 항체는 펩티드 결합을 통해, 또는 펩티드 링커를 통해 직접적으로 서로에 융합될 수 있다.

[0492]

1. 단일-도메인 항체

[0493]

본 출원의 CARs는 하나 또는 그 이상의 단일-도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 포함한다. sdAbs는 동일하거나 상이한 기원일 수 있고, 그리고 동일하거나 상이한 크기일 수 있다. 예시적인 sdAbs는 중쇄 단독 항체 (가령, V_HH 또는 V_{NAR})로부터 중쇄 가변 도메인, 경쇄를 자연적으로 결합하는 결합 분자, 전통적인 4-

사슬 항체로부터 유래된 단일 도메인 (가령, V_H 또는 V_L), 인간화 중쇄 단독 항체, 인간 중쇄 분절을 발현하는 유전자도입 생쥐 또는 쥐에 의해 생산된 인간 단일-도메인 항체, 그리고 항체로부터 유래된 것들 이외에 가공된 도메인 및 단일 도메인 골격을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 본 출원의 섹션 II에서 설명된 단일-도메인 항체를 비롯하여, 당해 분야에서 공지된 또는 본 발명자들에 의해 개발된 임의의 sdAbs가 본원에서 설명된 CARs를 작제하는데 이용될 수 있다. 이들 sdAbs는 생쥐, 쥐, 인간, 낙타, 라마, 칠성장어, 어류, 상어, 염소, 토끼 및 소를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 본원에서 예기된 단일-도메인 항체는 또한, 낙타과 (*Camelidae*) 및 상어 이외의 종으로부터 자연발생 단일-도메인 항체 분자를 포함한다.

[0494] 일부 구체예에서, sdAb는 경쇄를 결여하는 중쇄 항체 (본원에서 "중쇄 단독 항체"로서 또한 지칭됨)로서 알려져 있는 자연발생 단일-도메인 항원 결합 분자로부터 유래된다. 이런 단일 도메인 분자는 예로서, WO 94/04678 및 Hamers-Casterman, C. *et al.* (1993) *Nature* 363:446-448에서 개시된다. 명료함의 이유로, 경쇄를 자연적으로 결여하는 중쇄 분자로부터 유래된 가변 도메인은 이것을 4 사슬 면역글로불린의 전통적인 V_H 로부터 구별하기 위해 본원에서 V_{HH} 로서 알려져 있다. 이런 V_{HH} 분자는 낙타과 (*Camelidae*) 중, 예를 들면, 낙타, 라마, 비쿠냐, 단봉낙타, 알파카 및 구아나코에서 조성된 항체로부터 유래될 수 있다. 낙타과 (*Camelidae*) 이외에 다른 종이 경쇄를 자연적으로 결여하는 중쇄 분자를 생산할 수 있고, 그리고 이런 V_{HH} s는 본 출원의 범위 내에 있다.

[0495] 낙타로부터 V_{HH} 분자는 IgG 분자보다 약 10 배 작다. 이들은 단일 폴리펩티드이고, 그리고 매우 안정되고 극심한 pH 및 온도 조건에 내성일 수 있다. 게다가, 이들은 전통적인 4-사슬 항체의 경우에 해당하지 않는 프로테아제의 작용에 내성일 수 있다. 게다가, V_{HH} s의 시험관내 발현은 높은 수율, 적절하게 접합된 기능적 V_{HH} s를 생산한다. 이에 더하여, 낙타에서 산출된 항체는 항체 라이브러리의 이용을 통해 또는 낙타 이외에 포유동물의 면역화를 통해 시험관내에서 산출된 항체에 의해 인식되는 것들 이외에 에피토프를 인식할 수 있다 (가령, WO9749805를 참조한다). 따라서, 하나 또는 그 이상의 V_{HH} 도메인을 포함하는 다중특이적 또는 다가 CARs는 전통적인 4-사슬 항체로부터 유래된 항원 결합 단편을 포함하는 다중특이적 또는 다가 CARs보다 표적과 더욱 효율적으로 상호작용할 수 있다. V_{HH} s가 '특이한' 에피토프, 예를 들면, 공동 또는 그루브에 결합하는 것으로 알려져 있기 때문에, 이런 V_{HH} s를 포함하는 CARs의 친화성은 전통적인 다중특이적 폴리펩티드보다 치료적 처치에 더욱 적합할 수 있다.

[0496] 일부 구체예에서, sdAb는 연골 어류에서 발견되는 면역글로불린의 가변 영역으로부터 유래된다. 가령, sdAb는 상어의 혈청에서 발견되는 신규한 항원 수용체 (NAR)로서 알려져 있는 면역글로불린 아이소타입으로부터 유래될 수 있다. NAR의 가변 영역으로부터 유래된 단일 도메인 분자 ("IgNARs")를 생산하는 방법은 WO 03/014161 및 Streltsov (2005) *Protein Sci.* 14:2901-2909에서 설명된다.

[0497] 일부 구체예에서, sdAb는 재조합, CDR-합체된, 인간화, 낙타화, 탈면역화된 및/또는 시험관내 산출된다 (가령, 파지 전시에 의해 선별됨). 일부 구체예에서, 프레임워크 영역의 아미노산 서열은 프레임워크 영역 내에 특정한 아미노산 잔기의 "낙타화"에 의해 변경될 수 있다. 낙타화는 전통적인 4-사슬 항체로부터 (자연발생) V_H 도메인의 아미노산 서열에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 중쇄 항체의 V_{HH} 도메인에서 상응하는 위치(들)에서 발생하는 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기로 대체하거나 또는 치환하는 것을 지칭한다. 이것은 그 자체로 공지된 방식으로 수행될 수 있는데, 이것은 예로서, 본원에서 추가 설명의 기초에서 당업자에게 명백할 것이다. 이런 "낙타화" 치환은 바람직하게는, 본원에서 규정된 바와 같이 V_H - V_L 인터페이스에서 및/또는 이른바 낙타과 (*Camelidae*) 홀마크 잔기에서 형성되고 및/또는 존재하는 아미노산 위치에서 삽입된다 (가령, WO 94/04678, Davies and Riechmann *FEBS Letters* 339: 285-290, 1994; Davies and Riechmann *Protein Engineering* 9 (6): 531-537, 1996; Riechmann J. *Mol. Biol.* 259: 957-969, 1996; 그리고 Riechmann and Muyldermans J. *Immunol. Meth.* 231: 25-38, 1999를 참조한다).

[0498] 일부 구체예에서, sdAb는 인간 중쇄 분절을 발현하는 유전자도입 생쥐 또는 쥐에 의해 생산된 인간 단일-도메인 항체이다. 가령, US20090307787A1, U.S. 특허 번호 8,754,287, US20150289489A1, US20100122358A1, 그리고 WO2004049794를 참조한다. 일부 구체예에서, sdAb는 친화성 성숙된다.

[0499] 일부 구체예에서, 특정 항원 또는 표적에 대한 자연발생 V_{HH} 도메인은 낙타 V_{HH} 서열의 (미경험 또는 면역) 라이브러리로부터 획득될 수 있다. 이런 방법은 그 자체로 공지된 하나 또는 그 이상의 선별검사 기술을 이용하여, 상기 항원 또는 표적, 또는 이의 최소한 하나의 부분, 단편, 항원 결정인자 또는 에피토프를 이용하여 이런 라

이브러리를 선별검사하는 것을 수반하거나 또는 수반하지 않을 수 있다. 이런 라이브러리 및 기술은 예로서, WO 99/37681, WO 01/90190, WO 03/025020 및 WO 03/035694에서 설명된다. 대안으로, (미경험 또는 면역) V_{H} 라이브러리로부터 유래된 향상된 합성 또는 반합성 라이브러리, 예를 들면, 예로서 WO 00/43507에서 설명된 바와 같이, 무작위 돌연변이유발 및/또는 CDR 뒤섞음과 같은 기술에 의해 (미경험 또는 면역) V_{H} 라이브러리로부터 획득된 V_{H} 라이브러리가 이용될 수 있다.

[0500] 일부 구체예에서, 단일-도메인 항체는 전통적인 4-사슬 항체로부터 산출된다. 가령, EP 0 368 684, Ward et al. (Nature 1989 Oct. 12; 341 (6242): 544-6), Holt et al., Trends Biotechnol., 2003, 21(11):484-490; WO 06/030220; 그리고 WO 06/003388을 참조한다.

[0501] 2. 항원

[0502] 본 발명의 CARs에 의해 표적화된 항원(들)은 세포 표면 분자이다. 단일-도메인 항체는 특수한 질환 상태와 연관된 표적 세포 상에서 세포 표면 마커로서 행동하는 항원을 인식하도록 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 항원(가령, 첫 번째 항원 및/또는 두 번째 항원)은 종양 항원이다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CARs는 2개 또는 그 이상의 종양 항원을 표적으로 한다. 일부 구체예에서, 종양 항원은 B 세포 악성과 연관된다. 종양은 면역 반응, 특히 T 세포 매개된 면역 반응을 위한 표적 항원으로서 역할을 할 수 있는 다수의 단백질을 발현한다. CAR에 의해 표적화된 항원은 단일 병든 세포 상에서 항원 또는 질환에 각각 기여하는 상이한 세포 상에서 발현되는 항원일 수 있다. CAR에 의해 표적화된 항원은 질환에 직접적으로 또는 간접적으로 관련될 수 있다.

[0503] 종양 항원은 면역 반응, 특히 T-세포 매개된 면역 반응을 이끌어낼 수 있는 종양 세포에 의해 생산되는 단백질이다. 본 발명의 표적화된 항원의 선별은 치료되는 암의 특정 유형에 의존할 것이다. 예시적인 종양 항원은 예로서, 신경교종-연관된 항원, 암배아 항원 (CEA), β -인간 융모생식선자극호르몬, 알파 태아단백질 (AFP), 렉틴-반응성 AFP, 티로글로불린, RAGE-1, MN-CAIX, 인간 텔로머라아제 역전사효소, RU1, RU2 (AS), 장관 카르복실 에스테르분해효소, mut hsp70-2, M-CSF, 프로스타제 (prostate), 전립선-특이적 항원 (PSA), PAP, NY-ESO-1, LAG-1a, p53, 프로스테인, PSMA, HER2/neu, 서바이빈 및 텔로머라아제, 전립선-암종 종양 항원-1 (PCTA-1), MAGE, ELF2M, 호중구 엘라스타아제, 에프린B2, CD22, 인슐린 성장 인자 (IGF)-I, IGF-II, IGF-I 수용체 및 메소텔린을 포함한다.

[0504] 일부 구체예에서, 종양 항원은 악성 종양과 연관된 하나 또는 그 이상의 항원성 암 에피토프를 포함한다. 악성 종양은 면역 공격을 위한 표적 항원으로서 역할을 할 수 있는 다수의 단백질을 발현한다. 이들 분자는 조직 특이적 항원, 예를 들면, 흑색종에서 MART-1, 티로시나아제 및 gp100, 그리고 전립선암에서 전립선 산성 인산분해 효소 (PAP) 및 전립선-특이적 항원 (PSA)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 다른 표적 분자는 일군의 형질 전환-관련된 분자, 예를 들면, 종양유전자 HER2/Neu/ErbB-2에 속한다. 표적 항원의 또 다른 군은 종양태아 항원, 예를 들면, 암배아 항원 (CEA)이다. B-세포 림프종에서, 종양 특이적 이디오타입 면역글로불린은 개별 종양에 독특한 진성 종양 특이적 면역글로불린 항원을 구성한다. B-세포 분화 항원, 예를 들면, CD19, CD20 및 CD37은 B-세포 림프종에서 표적 항원에 대한 다른 후보이다.

[0505] 일부 구체예에서, 종양 항원은 종양 특이적 항원 (TSA) 또는 종양-연관된 항원 (TAA)이다. TSA는 종양 세포에 독특하고 체내에서 다른 세포에서는 발생하지 않는다. TAA 연관된 항원은 종양 세포에 독특하지 않고, 그리고 그 대신에, 상기 항원에 대한 면역 관용의 상태를 유도하는데 실패하는 조건 하에 정상적인 세포에서도 발현된다. 종양 상에서 항원의 발현은 면역계가 상기 항원에 반응할 수 있게 하는 조건 하에 일어날 수 있다. TAAs는 면역계가 미성숙할 때인 태아 발달 동안 정상적인 세포에서 발현되고 반응할 수 없는 항원일 수 있거나, 또는 이들은 정상적인 세포에서는 극히 낮은 수준에서 정상적으로 존재하지만 종양 세포에서는 훨씬 높은 수준으로 발현되는 항원일 수 있다.

[0506] TSA 또는 TAA 항원의 무제한적 실례는 다음을 포함한다: 분화 항원, 예를 들면, MART-1/MelanA (MART-I), gp 100 (Pmel 17), 티로시나아제, TRP-1, TRP-2 및 종양 특이적 다계열 항원, 예를 들면, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15; 과다발현된 배아 항원, 예를 들면, CEA; 과다발현된 종양유전자 및 돌연변이된 종양-억제 유전자, 예를 들면, p53, Ras, HER2/neu; 염색체 전위로부터 발생하는 독특한 종양 항원; 예를 들면, BCR-ABL, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR; 그리고 바이러스 항원, 예를 들면, 엡스타인 바르 바이러스 항원 EBVA 및 인간 유두종 바이러스 (HPV) 항원 E6과 E7. 다른 큰, 단백질-기초된 항원은 TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, RAGE, NY-ESO, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23HI, PSA, TAG-72, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, 베타-카테닌, CDK4, Mum-1, p 15, p 16, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, 알파 태아단백질, 베타-HCG, BCA225,

BTAA, CA 125, CA 15-3\CA 27.29\BCAA, CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\PI, CO-029, FGF-5, G250, Ga733\EpCAM, HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO- 1, RCAS 1, SDCCAG16, TA-90\Mac-2 결합 단백질\시클로필린 C-연관된 단백질, TAAL6, TAG72, TLP, 그리고 TPS를 포함한다.

[0507] 일부 구체예에서, 항원(가령, 첫 번째 항원 및/또는 두 번째 항원)은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다.

[0508] 3. 펩티드 링커

[0509] 본원에서 설명된 다중특이적 또는 다가 CARs에서 다양한 단일-도메인 항체는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합될 수 있다. 일부 구체예에서, 단일-도메인 항체는 임의의 펩티드 링커 없이 서로에 직접적으로 융합된다. 상이한 단일-도메인 항체를 연결하는 펩티드 링커는 동일하거나 상이할 수 있다. CARs의 상이한 도메인은 또한, 펩티드 링커를 통해 서로에 융합될 수 있다.

[0510] CAR에서 각 펩티드 링커는 단일-도메인 항체 및/또는 다양한 도메인의 구조적 및/또는 기능적 특질에 따라 동일하거나 상이한 길이 및/또는 서열을 가질 수 있다. 각 펩티드 링커는 독립적으로 선별되고 최적화될 수 있다. CARs에서 이용된 펩티드 링커(들)의 길이, 유연성의 정도 및/또는 다른 성질은 하나 또는 그 이상의 특정 항원 또는 에피토프에 대한 친화성, 특이성 또는 결합능을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 성질에 일부 영향을 줄 수 있다. 가령, 더욱 긴 펩티드 링커가 2개의 인접한 도메인이 서로를 입체적으로 간섭하지 않도록 담보하기 위해 선별될 수 있다. 가령, 다중결합 항원을 향해 지향된 단일-도메인 항체를 포함하는 본 출원의 다가 또는 다중특이적 CAR에서, 펩티드 링커의 길이 및 유연성은 바람직하게는, 이것이 다가 CAR에서 각 단일-도메인 항체가 다합체의 아단위 각각에서 항원 결정인자에 결합하도록 허용하는 정도이다. 일부 구체예에서, 짧은 펩티드 링커가 CAR의 막경유 도메인 및 세포내 신호전달 도메인 사이에 배치될 수 있다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 인접한 도메인이 서로에 대하여 자유롭게 움직이도록 유연한 잔기(가령, 글리신 및 세린)를 포함한다. 가령, 글리신-세린 이중항이 적합한 펩티드 링커일 수 있다.

[0511] 펩티드 링커는 임의의 적합한 길이일 수 있다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 최소한 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75, 100개 또는 그 이상의 아미노산 길이 중에서 한 가지이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 100, 75, 50, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5개 또는 더욱 적은 아미노산 길이 중에서 한 가지 이내이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커의 길이는 약 1개 아미노산 내지 약 10개 아미노산, 약 1개 아미노산 내지 약 20개 아미노산, 약 1개 아미노산 내지 약 30개 아미노산, 약 5개 아미노산 내지 약 15개 아미노산, 약 10개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 5개 아미노산 내지 약 30개 아미노산, 약 10개 아미노산 내지 약 30개 아미노산, 약 30개 아미노산 내지 약 50개 아미노산, 약 50개 아미노산 내지 약 100개 아미노산, 또는 약 1개 아미노산 내지 약 100개 아미노산 중에서 한 가지이다.

[0512] 펩티드 링커는 자연발생 서열, 또는 비자연발생 서열을 가질 수 있다. 가령, 중쇄 단독 항체의 힌지 영역으로부터 유래된 서열이 링커로서 이용될 수 있다. 가령, W01996/34103을 참조한다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 유연한 링커이다. 예시적인 유연한 링커는 글리신 중합체 $(G)_n$, 글리신-세린 중합체(가령, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$, $(GGGS)_n$ 및 $(GGGGS)_n$ 포함, 여기서 n 은 최소한 1의 정수이다), 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체, 그리고 당해 분야에서 공지된 다른 유연한 링커를 포함한다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 아미노산 서열 GGGGS(서열 번호: 144), $(GGGGS)_2$ (서열 번호: 145), $(GGGS)_4$ (서열 번호: 146), GGGSGGGSGGGGGSGSGGGGS(서열 번호: 147), GGGSGGGSGGGGGSGSGGGSGGGSGGGGS(서열 번호: 148), $(GGGGS)_3$ (서열 번호: 149), $(GGGGS)_4$ (서열 번호: 150), 또는 $(GGGGS)_3$ (서열 번호: 151)을 포함한다.

[0513] 막경유 도메인

[0514] 본 출원의 CARs는 세포외 항원 결합 도메인에 직접적으로 또는 간접적으로 융합될 수 있는 막경유 도메인을 포함한다. 막경유 도메인은 자연 공급원으로부터 또는 합성 공급원으로부터 유래될 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, "막경유 도메인"은 세포막, 바람직하게는 진행 세포 막에서 열역학적으로 안정되는 임의의 단백질 구조를 지칭한다. 본원에서 설명된 CARs에서 이용에 양립성인 막경유 도메인은 자연발생 단백질로부터 획득될 수 있다. 대안으로, 이것은 세포막에서 열역학적으로 안정되는 합성, 비자연발생 단백질 분절, 예를 들면, 소수성 단백질 분절일 수 있다.

- [0515] 막경유 도메인은 막경유 도메인의 3차원 구조에 근거하여 분류된다. 가령, 막경유 도메인은 알파 나선, 하나 이상의 알파 나선의 복합체, 베타-배럴, 또는 세포의 인지질 이중층에 걸쳐 있을 수 있는 임의의 다른 안정된 구조를 형성할 수 있다. 게다가, 막경유 도메인은 또한 또는 대안으로, 막경유 도메인이 막을 교차하는 통과 및 단백질의 배향정위를 비롯한 막경유 도메인 위상에 근거하여 분류될 수 있다. 가령, 단일-통과 막 단백질은 세포막을 1회 교차하고, 그리고 다중-통과 막 단백질은 세포막을 최소한 2회 (가령, 2, 3, 4, 5, 6, 7회 또는 그 이상) 교차한다. 막 단백질은 세포의 내측 및 외측에 대하여 그들의 말단 및 막-통과 분절(들)의 위상에 따라 유형 I, 유형 II 또는 유형 III으로서 규정될 수 있다. 유형 I 막 단백질은 단일 막-걸친 영역을 갖고, 그리고 단백질의 N 말단이 세포의 지질 이중층의 세포의 측면 상에 존재하고 단백질의 C 말단이 세포질 측면 상에 존재하도록 배향정위된다. 유형 II 막 단백질 역시 단일 막-걸친 영역을 갖지만, 단백질의 C 말단이 세포의 지질 이중층의 세포의 측면 상에 존재하고 단백질의 N 말단이 세포질 측면 상에 존재하도록 배향정위된다. 유형 III 막 단백질은 복수의 막-걸친 분절을 갖고, 그리고 막경유 분절의 숫자 및 N-과 C-말단의 위치에 근거하여 더욱 하위분류될 수 있다.
- [0516] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 CAR의 막경유 도메인은 유형 I 단일-통과 막 단백질로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다중-통과 막 단백질로부터 막경유 도메인은 또한, 본원에서 설명된 CARs에서 이용에 양립성일 수 있다. 다중-통과 막 단백질은 복합적 (최소한 2, 3, 4, 5, 6, 7개 또는 그 이상) 알파 나선 또는 베타 시트 구조를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 다중-통과 막 단백질의 N 말단 및 C 말단은 지질 이중층의 대립하는 측면 상에 존재한다, 예를 들면, 단백질의 N 말단은 지질 이중층의 세포질 측면 상에 존재하고 단백질의 C 말단은 세포 외 측면 상에 존재한다.
- [0517] 일부 구체예에서, CAR의 막경유 도메인은 T 세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 사슬, CD28, CD3 엽실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), CD160, CD19, IL-2R 베타, IL-2R 감마, IL-7R α, ITGA1, 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, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (텍타일), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D 및/또는 NKG2C의 막경유 도메인에서 선택되는 막경유 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1에서 선택된다.
- [0518] 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD28로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 CD28의 막경유 도메인이다. 일부 구체예에서, CD28의 막경유 도메인은 서열 번호: 135의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0519] 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 서열 번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 α의 막경유 도메인이다. 일부 구체예에서, CD8 α의 막경유 도메인은 서열 번호: 134의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.
- [0520] 본원에서 설명된 CARs에서 이용을 위한 막경유 도메인은 또한, 합성, 비자연발생 단백질 분절의 최소한 일부를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 합성, 비자연발생 알파 나선 또는 베타 시트이다. 일부 구체예에서, 단백질 분절은 최소한 거의 20개 아미노산, 예를 들면, 최소한 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 또는 그 이상의 아미노산이다. 합성 막경유 도메인의 실례는 당해 분야에서, 예를 들면, U.S. 특허 번호 7,052,906 B1 및 PCT 공개 번호 WO 2000/032776 A2에서 공지되고, 이들의 유관한 개시는 본원에 참조로서 편입된다.
- [0521] 막경유 도메인은 막경유 도메인의 C 말단 측면에서 위치된 막경유 영역 및 세포질 영역을 포함할 수 있다. 막경유 도메인의 세포질 영역은 3개 또는 그 이상의 아미노산을 포함할 수 있고, 그리고 일부 구체예에서, 막경유 도메인을 지질 이중층에서 배향정위하는데 도움을 준다. 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 시스테인 잔기가 막경유 도메인의 막경유 영역 내에 존재한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 시스테인 잔기가 막경유 도메인의 세포질 영역 내에 존재한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인의 세포질 영역은 양성으로 하전된 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인의 세포질 영역은 아미노산 아르기닌, 세린 및 리신을 포함한다.
- [0522] 일부 구체예에서, 막경유 도메인의 막경유 영역은 소수성 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 구체예에서, CAR의

막경유 도메인은 인공 소수성 서열을 포함한다. 가령, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중항이 막경유 도메인의 C 말단에서 존재할 수 있다. 일부 구체예에서, 막경유 영역은 주로 소수성 아미노산 잔기, 예를 들면, 알라닌, 류신, 이소류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트립토판, 또는 발린을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 영역은 소수성이다. 일부 구체예에서, 막경유 영역은 폴리-류신-알라닌 서열을 포함한다. 수치요법, 또는 단백질 또는 단백질 분질의 소수성 또는 친수성 특징은 당해 분야에서 공지된 임의의 방법, 예를 들면, Kyte 및 Doolittle 수치요법 분석에 의해 사정될 수 있다.

[0523] 세포내 신호전달 도메인

[0524] 본 출원의 CARs는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 신호전달 도메인은 CARs를 발현하는 면역 작동체 세포의 정상적인 작동체 기능 중에서 최소한 하나의 활성화에 책임을 진다. 용어 "작동체 기능"은 세포의 특수한 기능을 지칭한다. T 세포의 작동체 기능은 예로서, 세포용해 활성화 또는 사이토킨의 분비를 비롯한 보조 활성화 일 수 있다. 따라서 용어 "세포질 신호전달 도메인"은 작동체 기능 신호를 전달하고 세포가 특수한 기능을 수행하도록 주동하는 단백질의 부분을 지칭한다. 비록 통상적으로 전체 세포질 신호전달 도메인이 이용될 수 있긴 하지만, 많은 경우에 전체 사슬을 이용하는 것이 필요하지 않다. 세포질 신호전달 도메인의 절두된 부분이 이용되는 정도까지, 이런 절두된 부분은 이것이 작동체 기능 신호를 전달하기만 하면, 본래 사슬 대신에 이용될 수 있다. 용어 세포질 신호전달 도메인은 따라서, 작동체 기능 신호를 전달하는데 충분한 세포질 신호전달 도메인의 임의의 절두된 부분을 포함하는 것으로 의미된다.

[0525] 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 면역 작동체 세포의 일차 세포내 신호전달 도메인으로 본질적으로 구성되는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. "일차 세포내 신호전달 도메인"은 면역 작동체 기능을 유도하기 위해 자극성 방식으로 작동하는 세포질 신호전달 서열을 지칭한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기초된 활성화 모티프, 또는 ITAM으로서 알려져 있는 신호전달 모티프를 내포한다. 본원에서 이용된 바와 같이, "ITAM"은 일반적으로, 많은 면역 세포에서 발현되는 신호전달 분자의 꼬리 부분 내에 존재하는 보존된 단백질 모티프이다. 상기 모티프는 6-8개 아미노산에 의해 분리된 아미노산 서열 YxxL/I의 2개 반복을 포함할 수 있는데, 여기서 각 x는 독립적으로 임의의 아미노산이고, 보존된 모티프 YxxL/Ix(6-8)YxxL/I가 생산된다. 신호전달 분자내에 ITAMs는 세포 내에서 신호전달에 중요한데, 이것은 최소한 부분적으로, 신호전달 분자의 활성화 이후에 ITAM 내에 티로신 잔기의 인산화에 의해 매개된다. ITAMs는 또한, 신호전달 경로에 관련된 다른 단백질에 대한 도킹 부위로서 기능할 수 있다. 예시적인 ITAM-내포 일차 세포질 신호전달 서열은 CD3 ζ, FcR 감마 (FCER1G), FcR 베타 (Fc 엡실론 Rib), CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d로부터 유래된 것들을 포함한다.

[0526] 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인으로 구성된다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 야생형 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인이다. 일부 구체예에서, 야생형 CD3 ζ의 일차 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 야생형 CD3 ζ의 일차 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 142의 핵산에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 하나 또는 그 이상의 돌연변이, 예를 들면, Q65K를 내포하는 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인의 기능적 돌연변이체이다. 일부 구체예에서, 돌연변이체 CD3 ζ의 일차 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 돌연변이체 CD3 ζ의 일차 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 143의 핵산에 의해 인코딩된다.

[0527] 동시자극성 신호전달 도메인

[0528] 많은 면역 작동체 세포는 세포 증식, 분화 및 생존을 증진할 뿐만 아니라 세포의 작동체 기능을 활성화시키기 위해, 항원 특이적 신호의 자극에 더하여, 동시자극을 필요로 한다. 일부 구체예에서, CAR은 최소한 하나의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "동시자극성 신호전달 도메인"은 세포 내에서 신호전달을 매개하여 면역 반응, 예를 들면, 작동체 기능을 유도하는 단백질의 최소한 일부를 지칭한다. 본원에서 설명된 키메라 수용체의 동시자극성 신호전달 도메인은 동시자극성 단백질로부터 세포질 신호전달 도메인일 수 있는데, 이것은 신호를 전달하고 면역 세포, 예를 들면, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구 또는 호산구에 의해 매개된 반응을 조정한다. "동시자극성 신호전달 도메인"은 동시자극성 분자의 세포질 부분일 수 있다. 용어 "동시자극성 분자"는 동시자극성 리간드와 특이적으로 결합하고, 따라서 면역 세포에 의한 동시자극성 반응, 예를 들면, 하지만 제한 없이, 증식 및 생존을 매개하는 면역 세포 (가령, T 세포) 상에서 동계 결합 상

대를 지칭한다.

[0529] 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 단일 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개 또는 그 이상 (가령, 약 2, 3, 4개, 또는 그 이상 중에서 한 가지)의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개 또는 그 이상의 동일한 동시자극성 신호전달 도메인, 예를 들면, CD28의 동시자극성 신호전달 도메인의 2개 사본을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 상이한 동시자극성 단백질, 예를 들면, 본원에서 설명된 임의의 2개 또는 그 이상의 동시자극성 단백질로부터 2개 또는 그 이상의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 일차 세포내 신호전달 도메인 (가령, CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인) 및 하나 또는 그 이상의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 동시자극성 신호전달 도메인 및 일차 세포내 신호전달 도메인 (가령, CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인)은 임의선택적 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일차 세포내 신호전달 도메인 및 하나 또는 그 이상의 동시자극성 신호전달 도메인은 임의의 적절한 순서에서 배열될 수 있다. 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 동시자극성 신호전달 도메인은 막경유 도메인 및 일차 세포내 신호전달 도메인 (가령, CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인) 사이에 위치된다. 복수의 동시자극성 신호전달 도메인이 부가적 또는 상승적 자극 효과를 제공할 수 있다.

[0530] 숙주 세포 (가령, 면역 세포)에서 동시자극성 신호전달 도메인의 활성화는 상기 세포가 사이토킨의 생산 및 분비, 식균 성질, 증식, 분화, 생존 및/또는 세포독성을 증가 또는 감소시키도록 유도할 수 있다. 임의의 동시자극성 분자의 동시자극성 신호전달 도메인은 본원에서 설명된 CARs에서 이용에 양립할 수 있다. 동시자극성 신호전달 도메인의 유형(들)은 작동체 분자가 발현될 면역 작동체 세포의 유형 (가령, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 또는 호산구) 및 원하는 면역 작동체 기능 (가령, ADCC 효과)과 같은 인자에 근거하여 선별된다. CARs에서 이용을 위한 동시자극성 신호전달 도메인의 실례는 제한 없이, B7/CD28 패밀리의 구성원 (가령, B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7, BTLA/CD272, CD28, CTLA-4, Gi24/VISTA/B7-H5, ICOS/CD278, PD-1, PD-L2/B7-DC 및 PDCD6); TNF 상과의 구성원 (가령, 4-1BB/TNFSF9/CD137, 4-1BB 리간드/TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFSF13C, CD27/TNFRSF7, CD27 리간드/TNFSF7, CD30/TNFRSF8, CD30 리간드/TNFSF8, CD40/TNFSF5, CD40/TNFSF5, CD40 리간드/TNFSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, GITR 리간드/TNFSF18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFSF14, 림프독소-알파/TNF-베타, OX40/TNFRSF4, OX40 리간드/TNFSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNF-알파 및 TNF RII/TNFRSF1B); SLAM 패밀리의 구성원 (가령, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6 및 SLAM/CD150); 그리고 임의의 다른 동시자극성 분자, 예를 들면, CD2, CD7, CD53, CD82/Kai-1, CD90/Thy1, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIR1, HLA 클래스 I, HLA-DR, 이카로스, 인테그린 알파 4/CD49d, 인테그린 알파 4 베타 1, 인테그린 알파 4 베타 7/LPAM-1, LAG-3, TCL1A, TCL1B, CRTAM, DAP12, 텍틴-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP, TSLP R, 림프구 기능 연관된 항원-1 (LFA-1), 그리고 NKG2C를 포함하는, 동시자극성 단백질의 세포질 신호전달 도메인일 수 있다.

[0531] 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, CD3, 림프구 기능-연관된 항원-1(LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, 그리고 CD83에 특이적으로 결합하는 리간드로 구성된 군에서 선택된다.

[0532] 일부 구체예에서, 본 출원의 CAR에서 세포내 신호전달 도메인은 CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인 및 CD28의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 CD28의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CD28의 동시자극성 신호전달 도메인은 서열 번호: 138의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 228의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0533] 일부 구체예에서, 본 출원의 CAR에서 세포내 신호전달 도메인은 CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인 (즉, 4-1BB)을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ의 세포질 신호전달 도메인 및 CD137의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 CD137의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CD137의 동시자극성 신호전달 도메인은 서열 번호: 139의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0534] 일부 구체예에서, 본 출원의 CAR에서 세포내 신호전달 도메인은 CD28의 동시자극성 신호전달 도메인 및 CD137의

동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 의 세포질 신호전달 도메인, CD28의 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD137의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 N 말단으로부터 C 말단으로 CD28의 동시자극성 신호전달 도메인, CD137의 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 의 세포질 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 CD28의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CD28의 동시자극성 신호전달 도메인은 서열 번호: 138의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 CD137의 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CD137의 동시자극성 신호전달 도메인은 서열 번호: 139의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0535] 동시자극성 신호전달 도메인이 면역 세포의 면역 반응을 조절할 수 있도록, 본원에서 설명된 동시자극성 신호전달 도메인 중에서 한 가지의 변이체 또한 본 발명의 범위 내에 있다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 야생형 대응물과 비교하여 최대 10개 아미노산 잔기 변이 (가령, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 8개)를 포함한다. 하나 또는 그 이상의 아미노산 변이를 포함하는 이런 동시자극성 신호전달 도메인은 변이체로서 지칭될 수 있다. 동시자극성 신호전달 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이는 돌연변이를 포함하지 않는 동시자극성 신호전달 도메인에 비하여 신호 전달에서 증가 및 면역 반응의 증강된 자극을 유발할 수 있다. 동시자극성 신호전달 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이는 돌연변이를 포함하지 않는 동시자극성 신호전달 도메인에 비하여 신호 전달에서 감소 및 면역 반응의 감소된 자극을 유발할 수 있다.

[0536] **хин지 영역**

[0537] 본 출원의 CARs는 세포의 항원 결합 도메인 및 막경유 도메인 사이에 위치되는 힙지 도메인을 포함할 수 있다. 힙지 도메인은 단백질의 두 도메인 사이에서 일반적으로 발견되고, 그리고 단백질의 유연성 및 서로에 대하여 이들 도메인 중에서 어느 하나 또는 둘 모두의 움직임을 허용할 수 있는 아미노산 분절이다. 작동체 분자의 막경유 도메인에 대하여 세포의 항원 결합 도메인의 이런 유연성과 움직임을 제공하는 임의의 아미노산 서열이 이용될 수 있다.

[0538] 힙지 도메인은 약 10-100개 아미노산, 예를 들면, 약 15-75개 아미노산, 20-50개 아미노산, 또는 30-60개 아미노산 중에서 한 가지를 내포할 수 있다. 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 최소한 약 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 또는 75개 아미노산 길이 중에서 한 가지일 수 있다.

[0539] 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 자연발생 단백질의 힙지 도메인이다. 당해 분야에서 힙지 도메인을 포함하는 것으로 공지된 임의의 단백질의 힙지 도메인은 본원에서 설명된 키메라 수용체에서 이용에 양립한다. 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 자연발생 단백질의 힙지 도메인의 최소한 일부이고 키메라 수용체에 유연성을 부여한다. 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 CD8 α 로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 CD8 α 의 힙지 도메인의 부분, 예를 들면, CD8 α 의 힙지 도메인의 최소한 15개 (가령, 20, 25, 30, 35, 또는 40개) 연속 아미노산을 내포하는 단편이다. 일부 구체예에서, CD8 α 의 힙지 도메인은 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, CD8 α 의 힙지 도메인은 서열 번호: 131의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0540] 항체, 예를 들면, IgG, IgA, IgM, IgE 또는 IgD 항체의 힙지 도메인은 또한, 본원에서 설명된 pH-의존성 키메라 수용체 시스템에서 이용에 양립한다. 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 항체의 불변 도메인 CH1 및 CH2를 연결하는 힙지 도메인이다. 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 항체의 힙지 도메인이고, 그리고 상기 항체의 힙지 도메인 및 상기 항체의 하나 또는 그 이상의 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 항체의 힙지 도메인 및 상기 항체의 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 힙지 도메인은 항체의 힙지 도메인 및 상기 항체의 CH2와 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD 항체이다. 일부 구체예에서, 항체는 IgG 항체이다. 일부 구체예에서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 항체이다. 일부 구체예에서, 힙지 영역은 IgG1 항체의 힙지 영역 및 CH2와 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 힙지 영역은 IgG1 항체의 힙지 영역 및 CH3 불변 영역을 포함한다.

[0541] 비자연발생 펩티드 역시 본원에서 설명된 키메라 수용체에 대한 힙지 도메인으로서 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, Fc 수용체의 세포의 리간드-결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 힙지 도메인은 펩티드 링커, 예를 들면, (GxS)_n 링커이고, 여기서 x 및 n은 독립적으로 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 또는 그 이상을 비롯하여, 3 및 12 사이의 정수일 수 있다.

[0542] **신호 펩티드**

[0543] 본 출원의 CARs는 폴리펩티드의 N 말단에서 신호 펩티드 (신호 서열로서 또한 알려져 있음)를 포함할 수 있다. 일반적으로, 신호 펩티드는 폴리펩티드를 세포 내에 원하는 부위로 표적화시키는 펩티드 서열이다. 일부 구체예에서, 신호 펩티드는 작동체 분자를 세포의 분비 경로로 표적화시키고, 그리고 작동체 분자의 지질 이중층 내로의 통합 및 정착을 허용할 것이다. 본원에서 설명된 CARs에서 이용에 양립하는, 자연발생 단백질의 신호 서열 또는 합성, 비자연발생 신호 서열을 비롯한 신호 펩티드는 당업자에게 명백할 것이다. 일부 구체예에서, 신호 펩티드는 CD8 α, GM-CSF 수용체 α 및 IgG1 중쇄로 구성된 군에서 선택되는 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 신호 펩티드는 CD8 α로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD8 α의 신호 펩티드는 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, CD8 α의 신호 펩티드는 서열 번호: 128 또는 서열 번호: 129의 핵산 서열에 의해 인코딩된다.

[0544] **IV. 가공된 면역 작동체 세포**

[0545] 본원에서 설명된 CARs 중에서 한 가지를 포함하는 숙주 세포 (가령, 면역 작동체 세포)가 본 출원에서 더욱 제공된다.

[0546] 따라서, 일부 구체예에서, (a) 첫 번째 항원 (가령, 첫 번째 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 두 번째 항원 (가령, 두 번째 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (CAR)를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공되고, 여기서 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 상이하다. 일부 구체예에서, 첫 번째 항원 및/또는 두 번째 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 단일-도메인 항체 및 두 번째 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다.

[0547] 일부 구체예에서, (a) 항-BCMA 단일-도메인 항체 및 항-CD38 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA x CD38 CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb 및/또는 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체 및 항-CD38 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 항-CD38 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 항-CD38 sdAb의 C 말단에서 융합된다.

일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 항체는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 서열 번호: 207-216으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다.

[0548]

일부 구체예에서, (a) 항-CD19 단일-도메인 항체 및 항-CD20 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 x CD20 CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb 및/또는 항-CD20 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체 및 항-CD20 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 서열 번호: 206의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다.

[0549]

일부 구체예에서, (a) 항-CD19 단일-도메인 항체 및 항-CD22 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 x CD22 CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb 및/또는 항-

CD22 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD22 단일-도메인 항체 및 항-CD22 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD22 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD22 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 x CD22 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x CD22 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다.

[0550] 일부 구체예에서, (a) 항-CD19 단일-도메인 항체 및 항-BCMA 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 x BCMA CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb 및/또는 항-BCMA sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체 및 항-BCMA 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-BCMA sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-BCMA sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 x BCMA CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다.

[0551] 일부 구체예에서, (a) 항원 (가령, 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 복수의 단일-도메인 항체 (sdAbs)를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 키메라 항원 수용체를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공된다. 일부 구체

예에서, 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 복수의 sdAbs는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 단일특이적이다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 다중특이적, 예를 들면, 이중특이적이다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 서열 번호: 198-201로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0552] 일부 구체예에서, (a) 항원 (가령, 종양 항원)의 첫 번째 에피토프에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 및 상기 항원의 두 번째 에피토프에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 키메라 항원 수용체를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공되고, 여기서 첫 번째 에피토프 및 두 번째 에피토프는 상이하다. 일부 구체예에서, 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 단일-도메인 항체 및 두 번째 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이제이다.

[0553] 일부 구체예에서, (a) 항-CD19 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 키메라 항원 수용체를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공되고, 여기서 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 1의 아미노산 서열, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3를 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2,

CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포 내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 서열 번호: 248의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다.

[0554] 일부 구체예에서, (a) 항-CD20 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD20 CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공되고, 여기서 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 4의 아미노산 서열, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 244의 아미노산 서열을 포함하는 FR1, 서열 번호: 245의 아미노산 서열을 포함하는 FR2, 서열 번호: 246의 아미노산 서열을 포함하는 FR3 및/또는 서열 번호: 247의 아미노산 서열을 포함하는 FR4를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 V_H 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 서열 번호: 249의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다.

[0555] 일부 구체예에서, (a) 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공되고, 여기서 항-BCMA sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:

[0556] (12) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

[0557] (13) 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

[0558] (14) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

[0559] (15) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

[0560] (16) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

[0561] (17) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

[0562] (18) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고

고 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

- [0563] (19) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0564] (20) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0565] (21) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0566] (22) 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0567] 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 78-88로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 서열 번호: 152-162로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이계이다.
- [0568] 일부 구체예에서, (a) 항-CD38 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD38 CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)가 제공되고, 여기서 항-BCMA sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0569] (13) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0570] (14) 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0571] (15) 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0572] (16) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0573] (17) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0574] (18) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0575] (19) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;

- [0576] (20) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0577] (21) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0578] (22) 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0579] (23) 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0580] (24) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0581] 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 서열 번호: 89-100으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3ζ으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8α 신호 펩티드, 항-CD38 sdAb, CD8α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8α 힌지 도메인, CD8α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3ζ으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 서열 번호: 163-174로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CD38 CAR이 제공된다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다.
- [0582] 2개 또는 그 이상의 상이한 CARs를 포함하는 (또는 발현하는) 가공된 면역 작동체 세포 역시 제공된다. 본원에서 설명된 임의의 2개 또는 그 이상의 CARs는 조합으로 발현될 수 있다. 이들 CARs는 상이한 항원을 표적으로 하고, 따라서 상승적 또는 부가적 효과를 제공할 수 있다. CARs의 세포외 항원 결합 도메인에서 단일-도메인 항체가 단지 단일 항원 가변 사슬 (가령, 중쇄)을 갖기 때문에, 이런 CAR-발현 세포는 2개 또는 그 이상의 scFv-기초된 CARs를 공동발현하는 가공된 면역 작동체 세포에서 목격되는 바와 같은 가변 사슬 짝짓기 오류 문제를 갖지 않는다. 2개의 V_HH-기초된 CARs를 공동발현하는 예시적인 가공된 면역 작동체 세포는 도면 1e에서 도해된다. 당업자는 다른 sdAbs에 근거되거나 또는 본원에서 설명된 바와 같은 다른 구조를 갖는 CARs 역시 가공된 면역 작동체 세포에서 공동발현될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 2개 또는 그 이상의 CARs는 동일한 벡터 또는 상이한 벡터에서 인코딩될 수 있다.
- [0583] 가공된 면역 작동체 세포는 하나 또는 그 이상의 치료적 단백질 및/또는 면역조절제, 예를 들면, 면역 체크포인트 저해제를 더욱 발현할 수 있다. 가령, 국제 특허 출원 번호 PCT/CN2016/073489 및 PCT/CN2016/087855를 참조하는데, 이들은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다.
- [0584] **벡터**
- [0585] 본 출원은 본원에서 설명된 CARs 중에서 한 가지를 클로닝하고 발현하기 위한 벡터를 제공한다. 일부 구체예에서, 벡터는 진핵 세포, 예를 들면, 포유류 세포에서 복제 및 통합에 적합하다. 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 바이러스 벡터의 실례는 아데노바이러스 벡터, 아데노 연관된 바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 우두 벡터, 단순 포진 바이러스 벡터, 그리고 이들의 유도체를 포함하지만 이들에 한정되

지 않는다. 바이러스 벡터 기술은 당해 분야에서 널리 공지되고, 그리고 예로서, Sambrook *et al.* (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)에서 및 다른 바이러스 학과 분자생물학 매뉴얼에서 설명된다.

[0586] 포유류 세포 내로 유전자 전달을 위한 다수의 바이러스 기초된 시스템이 개발되었다. 가령, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편의한 플랫폼을 제공한다. 이중성 핵산은 벡터 내로 삽입되고, 그리고 당해 분야에서 공지된 기술을 이용하여 레트로바이러스 입자에서 포장될 수 있다. 재조합 바이러스는 이후, 단리되고, 그리고 가공된 포유류 세포에 시험관내 또는 탈체에서 전달될 수 있다. 다수의 레트로바이러스 시스템이 당해 분야에서 공지된다. 일부 구체예에서, 아데노바이러스 벡터가 이용된다. 다수의 아데노바이러스 벡터가 당해 분야에서 공지된다. 일부 구체예에서, 렌티바이러스 벡터가 이용된다. 일부 구체예에서, 자가-비활성화 렌티바이러스 벡터가 이용된다. 가령, 면역조절제 (가령, 면역 체크포인트 저해제) 코딩 서열을 보유하는 자가-비활성화 렌티바이러스 벡터 및/또는 키메라 항원 수용체를 보유하는 자가-비활성화 렌티바이러스 벡터는 당해 분야에서 공지된 프로토콜로 포장될 수 있다. 결과의 렌티바이러스 벡터는 당해 분야에서 공지된 방법을 이용하여 포유류 세포 (가령, 일차 인간 T 세포)를 형질도입하는데 이용될 수 있다. 레트로바이러스, 예를 들면, 렌티바이러스로부터 유래된 벡터는 장기간 유전자 전달을 달성하는데 적합한 도구인데, 그 이유는 이들이 도입유전자의 장기간, 안정된 통합 및 자손 세포에서 이의 증식을 허용하기 때문이다. 렌티바이러스 벡터는 또한, 낮은 면역원성을 갖고, 그리고 비-증식 세포를 형질도입할 수 있다.

[0587] 일부 구체예에서, 벡터는 본원에서 설명된 CAR을 인코딩하는 핵산 중에서 한 가지를 포함한다. 핵산은 예로서, 제한 엔도뉴클레아제 부위 및 하나 또는 그 이상의 선별가능 마커를 이용하는 것을 비롯하여, 당해 분야에서 임의의 공지된 분자 클로닝 방법을 이용하여 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 일부 구체예에서, 핵산은 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 포유류 세포에서 유전자 발현을 위한 다양한 프로모터가 탐구되었고, 그리고 당해 분야에서 공지된 임의의 프로모터가 본 발명에서 이용될 수 있다. 프로모터는 구조성 프로모터 또는 조절된 프로모터, 예를 들면, 유도성 프로모터로서 거의 분류될 수 있다.

[0588] 일부 구체예에서, CAR을 인코딩하는 핵산은 구조성 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 구조성 프로모터는 이중성 유전자 (도입유전자로서 또한 지칭됨)가 숙주 세포에서 구조성으로 발현되도록 허용한다. 본원에서 예기된 예시적인 구조성 프로모터는 시토크갈로바이러스 (Cytomegalovirus) (CMV) 프로모터, 인간 연장 인자-1알파 (hEF1 α), 유비퀴틴 C 프로모터 (UbiC), 포스포글리세로키나아제 프로모터 (PGK), 유인원 바이러스 40 초기 프로모터 (SV40), 그리고 CMV 초기 인핸서 (CAGG)와 연계된 닭 β -액틴 프로모터를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 도입유전자 발현을 주동하는데 있어서 이런 구조성 프로모터의 효율은 엄청나게 많은 수의 연구에서 폭넓게 비교되었다. 가령, Michael C. Milone *et al*은 일차 인간 T 세포에서 키메라 항원 수용체 발현을 주동하는 CMV, hEF1 α , UbiC 및 PGK의 효율을 비교하고, 그리고 hEF1 α 프로모터가 가장 높은 수준의 도입유전자 발현을 유도할 뿐만 아니라 CD4 및 CD8 인간 T 세포에서 최적으로 유지된다는 결론을 내렸다 (Molecular Therapy, 17(8): 1453-1464 (2009)). 일부 구체예에서, CAR을 인코딩하는 핵산은 hEF1 α 프로모터에 작동가능하게 연결된다.

[0589] 일부 구체예에서, CAR을 인코딩하는 핵산은 유도성 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 유도성 프로모터는 조절된 프로모터의 범주에 속한다. 유도성 프로모터는 하나 또는 그 이상의 조건, 예를 들면, 신체 상태, 가공된 면역 작동체 세포의 미세환경, 또는 가공된 면역 작동체 세포의 생리학적 상태, 유도인자 (다시 말하면, 유도제), 또는 이들의 조합에 의해 유도될 수 있다. 일부 구체예에서, 유도 조건은 가공된 포유류 세포에서 및/또는 제약학적 조성물을 제공받는 개체에서 내인성 유전자의 발현을 유도하지 않는다. 일부 구체예에서, 유도 조건은 다음과 같이 구성된 군에서 선택된다: 유도인자, 방사선조사 (가령, 전리 방사선, 광), 온도 (가령, 열), 산화환원 상태, 종양 환경, 그리고 가공된 포유류 세포의 활성화 상태.

[0590] 일부 구체예에서, 벡터는 또한, 렌티바이러스 벡터를 통해 형질감염된 숙주 세포의 개체군으로부터 CAR을 발현하는 세포를 선별하기 위한 선별가능 마커 유전자 또는 리포터 유전자를 내포한다. 선별가능 마커 및 리포터 유전자 둘 모두 숙주 세포에서 발현을 할 수 있게 하는 적절한 조절 서열과 측면에서 접할 수 있다. 가령, 벡터는 전사 및 번역 종결인자, 개시 서열, 그리고 핵산 서열의 발현의 조절에 유용한 프로모터를 내포할 수 있다.

[0591] 일부 구체예에서, 벡터는 CARs를 인코딩하는 하나 이상의 핵산을 포함한다. 일부 구체예에서, 벡터는 첫 번째 CAR을 인코딩하는 첫 번째 핵산 서열 및 두 번째 CAR을 인코딩하는 두 번째 핵산 서열을 포함하는 핵산을 포함하는데, 여기서 첫 번째 핵산은 자가-개열 펩티드를 인코딩하는 세 번째 핵산 서열을 통해 두 번째 핵산에 작동가능하게 연결된다. 일부 구체예에서, 자가-개열 펩티드는 T2A, P2A 및 F2A로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구

체에서, T2A 펩티드는 서열 번호: 254의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구체예에서, T2A 펩티드는 서열 번호: 255의 핵산 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, BCMA CAR 및 CD38 CAR을 인코딩하고, 서열 번호: 239의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다.

[0592] **면역 작동체 세포**

[0593] "면역 작동체 세포"는 면역 작동체 기능을 수행할 수 있는 면역 세포이다. 일부 구체예에서, 면역 작동체 세포는 최소한 $\text{Fc}\gamma\text{RIII}$ 을 발현하고 ADCC 작동체 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 면역 작동체 세포의 실례는 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 자연 킬러 (NK) 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포, 호중구, 그리고 호산구를 포함한다.

[0594] 일부 구체예에서, 면역 작동체 세포는 T 세포이다. 일부 구체예에서, T 세포는 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^-$, $\text{CD4}^-/\text{CD8}^+$, $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$, $\text{CD4}^-/\text{CD8}^-$, 또는 이들의 조합이다. 일부 구체예에서, T 세포는 CAR을 발현하고 표적 세포, 예를 들면, CD20^+ 또는 CD19^+ 종양 세포에 결합 시에 IL-2, TFN 및/또는 TNF를 생산한다. 일부 구체예에서, CD8^+ T 세포는 CAR을 발현하고 표적 세포에 결합 시에 항원 특이적 표적 세포를 용해한다.

[0595] 일부 구체예에서, 면역 작동체 세포는 NK 세포이다. 다른 구체예에서, 면역 작동체 세포는 확립된 세포주, 예를 들면, NK-92 세포일 수 있다.

[0596] 일부 구체예에서, 면역 작동체 세포는 줄기 세포, 예를 들면, 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, iPS, 또는 배아 줄기 세포와 구별된다.

[0597] 가공된 면역 작동체 세포는 CARs를 면역 작동체 세포, 예를 들면, T 세포 내로 도입함으로써 제조된다. 일부 구체예에서, CAR은 섹션 III에서 설명된 단리된 핵산 중에서 한 가지 또는 벡터 중에서 한 가지를 형질감염시킴으로써 면역 작동체 세포에 도입된다. 일부 구체예에서, CAR은 세포를 미소유체 시스템, 예를 들면, CELL SQUEEZE[®]를 통해 통과시키는 동안 단백질을 세포막 내로 삽입함으로써 면역 작동체 세포에 도입된다 (가령, U.S. 특허 출원 공개 번호 20140287509를 참조한다).

[0598] 벡터 또는 단리된 핵산을 포유류 세포 내로 도입하는 방법은 당해 분야에서 공지된다. 설명된 벡터는 물리적, 화학적 또는 생물학적 방법에 의해 면역 작동체 세포 내로 이전될 수 있다.

[0599] 벡터를 면역 작동체 세포 내로 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전, 리포펙션, 입자 충격, 현미주입, 전기천공 등을 포함한다. 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 생산하기 위한 방법은 당해 분야에서 널리 공지된다. 가령, Sambrook *et al.* (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York을 참조한다. 일부 구체예에서, 벡터는 전기천공에 의해 세포 내로 도입된다.

[0600] 벡터를 면역 작동체 세포 내로 도입하기 위한 생물학적 방법은 DNA 및 RNA 벡터의 이용을 포함한다. 바이러스 벡터는 유전자를 포유류, 예를 들면, 인간 세포 내로 삽입하기 위한 가장 폭넓게 이용되는 방법이 되고 있다.

[0601] 벡터를 면역 작동체 세포 내로 도입하기 위한 화학적 수단은 콜로이드 분산 시스템, 예를 들면, 거대분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로스피어, 비드, 그리고 수중유 유체, 미셀, 혼합된 미셀 및 리포솜을 비롯한 지질-기초된 시스템을 포함한다. 시험관내에서 전달 수송체로서 이용을 위한 예시적인 콜로이드성 시스템은 리포솜 (가령, 인공 막 소포)이다.

[0602] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 CARs 중에서 한 가지를 인코딩하는 RNA 분자는 전통적인 방법 (가령, 시험관 내 전사)에 의해 제조되고, 그리고 이후, 공지된 방법, 예를 들면, mRNA 전기천공을 통해 면역 작동체 세포 내로 도입될 수 있다. 가령, Rabinovich *et al.*, *Human Gene Therapy* 17:1027-1035을 참조한다.

[0603] 일부 구체예에서, 형질도입된 또는 형질감염된 면역 작동체 세포는 벡터 또는 단리된 핵산의 도입 후 탈체에서 증식된다. 일부 구체예에서, 형질도입된 또는 형질감염된 면역 작동체 세포는 증식하도록 최소한 약 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 10 일, 12 일, 또는 14 일 중에서 한 가지 동안 배양된다. 일부 구체예에서, 형질도입된 또는 형질감염된 면역 작동체 세포는 가공된 포유류 세포를 선별하기 위해 더욱 평가되거나 또는 선별검사된다.

[0604] 리포터 유전자는 잠재적으로 형질감염된 세포를 확인하고 조절 서열의 기능성을 평가하는데 이용될 수 있다. 일반적으로, 리포터 유전자는 수용자 생물체 또는 조직에서 존재하지 않거나 또는 이것에 의해 발현되지 않고, 그리고 발현이 쉽게 검출가능한 일부 성질, 예를 들면, 효소 활성화에 의해 형성되는 폴리펩티드를 인코딩하는 유전자이다. 리포터 유전자의 발현은 DNA가 수용자 세포 내로 도입된 후 적절한 시점에서 검정된다. 적합한 리포터 유전자는 루시페라아제, 베타-갈락토시다아제, 클로람페니콜 아세틸 전달효소, 분비된 알칼리 인산분해효소를

인코딩하는 유전자, 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 포함할 수 있다 (가령, Ui-Tei *et al.* FEBS Letters 479: 79-82 (2000)). 적합한 발현 시스템은 널리 알려져 있고, 그리고 공지된 기술을 이용하여 제조되거나 또는 상업적으로 획득될 수 있다.

[0605] 가공된 면역 작동체 세포에서 CARs를 인코딩하는 핵산의 존재를 입증하는 다른 방법은 예로서, 당업자에게 널리 공지된 분자 생물학적 검정, 예를 들면, 서던 및 노던 블로팅, RT-PCR 및 PCR; 생화학적 검정, 예를 들면, 예로서 면역학적 방법 (가령, ELISAs 및 웨스턴 블롯)에 의한 특정 펩티드의 존재 또는 부재의 검출을 포함한다.

[0606]

[0607] 1. T 세포의 공급원

[0608] T 세포의 확대 및 유전자 변형에 앞서, T 세포의 공급원이 개체로부터 획득된다. T 세포는 말초혈 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터 조직, 복수, 흉막 삼출, 비장 조직 및 종양을 비롯한 다수의 공급원으로부터 획득될 수 있다. 일부 구체예에서, 당해 분야에서 가용한 수많은 T 세포주가 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, T 세포는 당업자에게 공지된 수많은 기술, 예를 들면, Ficoll™ 분리를 이용하여 개체로부터 수집된 혈액의 단위로부터 획득될 수 있다. 일부 구체예에서, 개체의 순환 혈액으로부터 세포는 성분채집술에 의해 획득된다. 성분채집술 산물은 전형적으로, T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포, 다른 유핵 백혈구, 적혈구 및 혈소판을 비롯한 림프구를 내포한다. 일부 구체예에서, 성분채집술에 의해 수집된 세포는 혈장 분획물을 제거하고, 그리고 이들 세포를 차후 처리 단계를 위한 적절한 완충액 또는 배지에 배치하기 위해 세척될 수 있다. 일부 구체예에서, 세포는 인산염 완충된 식염수 (PBS)로 세척된다. 일부 구체예에서, 세척 용액은 칼슘을 결여하고, 그리고 마그네슘을 결여할 수 있거나 또는 전체는 아니지만 많은 이가 양이온을 결여할 수 있다. 다시 한 번, 놀랍게도, 칼슘의 부재에서 초기 활성화 단계는 확대된 활성화를 야기한다. 당업자가 쉽게 인지하는 바와 같이, 세척 단계는 당업자에게 공지된 방법에 의해, 예를 들면, 제조업체의 사용설명서에 따라서 반자동화 "관류" 원심분리기 (가령, Cobe 2991 세포 프로세서, Baxter Cytomate, 또는 Haemonetics Cell Saver 5)를 이용하여으로써 달성될 수 있다. 세척한 후, 세포는 다양한 생체적합성 완충액, 예를 들면, 예로서, Ca^{2+} -없는, Mg^{2+} -없는 PBS, 플라스말라이트 A, 또는 완충액이 있거나 또는 없는 다른 식염수에서 재현탁될 수 있다. 대안으로, 성분채집술 표본의 바람직하지 않은 성분은 제거될 수 있고, 그리고 세포는 배양 배지에서 직접적으로 재현탁될 수 있다.

[0609] 일부 구체예에서, T 세포는 적혈구를 용해시키고, 그리고 예로서, PERCOLL™ 구배를 통한 원심분리에 의해 또는 역류 원심 정화에 의해 단핵구를 고갈시킴으로써 말초혈 림프구로부터 분리된다. T 세포의 특정한 아개체군, 예를 들면, CD3+, CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+ 및 CD45RO+ T 세포는 양성 또는 음성 선별 기술에 의해 더욱 분리될 수 있다. 가령, 일부 구체예에서, T 세포는 원하는 T 세포의 양성 선별을 위한 충분한 기간 동안, 항-CD3/항-CD28 (즉, 3x28)-접합된 비드, 예를 들면, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T와 함께 배양에 의해 분리된다. 일부 구체예에서, 기간은 약 30 분이다. 추가 구체예에서, 기간은 30 분 내지 36 시간 또는 그 이상 및 이들 사이에 모든 정수 값의 범위에서 변한다. 추가 구체예에서, 기간은 최소한 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 시간이다. 일부 구체예에서, 기간은 10 내지 24 시간이다. 일부 구체예에서, 배양 기간은 24 시간이다. 백혈병을 앓는 환자로부터 T 세포의 단리의 경우에, 더욱 긴 배양 시간, 예를 들면, 24 시간의 이용은 세포 수율을 증가시킬 수 있다. 다른 세포 유형과 비교하여 소수의 T 세포가 있는 임의의 환경에서, 예를 들면, 종양 조직으로부터 또는 면역-억제된 개체로부터 종양 침윤성 림프구 (TIL)를 분리하는 경우에, 더욱 긴 배양 시간이 T 세포를 분리하는데 이용될 수 있다. 게다가, 더욱 긴 배양 시간의 이용은 CD8+ T 세포의 포획의 효율을 증가시킬 수 있다. 따라서, T 세포가 CD3/CD28 비드에 결합하도록 허용되는 시간을 단순히 단축하거나 또는 늘림으로써 및/또는 비드 대 T 세포의 비율을 증가시키거나 또는 감소시킴으로써 (본원에서 더욱 설명된 바와 같이), T 세포의 아개체군이 배양 개시에서 또는 상기 과정 동안 다른 시점에서, 위하여 또는 대항하여 우선적으로 선별될 수 있다. 추가적으로, 비드 또는 다른 표면 상에서 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체의 비율을 증가시키거나 또는 감소시킴으로써, T 세포의 아개체군은 배양 개시에서 또는 다른 원하는 시점에서, 위하여 또는 대항하여 우선적으로 선별될 수 있다. 당업자는 복수 라운드의 선별이 또한 이용될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 일부 구체예에서, 선별 절차를 수행하고, 그리고 "비선택된" 세포를 활성화 및 확대 과정에서 이용하는 것이 바람직할 수 있다. "비선택된" 세포는 또한, 추가 라운드의 선별에 종속될 수 있다.

[0610] 음성 선별에 의한 T 세포 개체군의 농축은 음성으로 선별된 세포에 독특한 표면 마커에 지향된 항체의 조합으로 달성될 수 있다. 한 가지 방법은 음성 자성 면역부착 또는 유세포분석법을 통한 세포 분류 및/또는 선별인데, 이것은 음성으로 선별된 세포 상에 존재하는 세포 표면 마커에 지향된 단일클론 항체의 콕테일을 이용한다. 가

령, 음성 선별에 의해 CD4+ 세포를 농축하기 위해, 단일클론 항체 카테일은 전형적으로, CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 일정한 구체예에서, CD4+, CD25+, CD62Lhi, GITR+ 및 FoxP3+을 전형적으로 발현하는 조절 T 세포를 농축하거나 또는 양성으로 선별하는 것이 바람직할 수 있다. 대안으로, 일정한 구체예에서, T 조절 세포는 항-CD25 접합된 비드 또는 다른 유사한 선별 방법에 의해 고갈된다.

[0611] 양성 또는 음성 선별에 의한 원하는 세포 개체군의 단리의 경우에, 세포 및 표면 (가령, 입자, 예를 들면, 비드)의 농도가 변할 수 있다. 일정한 구체예에서, 세포 및 비드의 최대 접촉을 담보하기 위해, 비드 및 세포가 함께 혼합되는 용적을 유의미하게 감소시키는 (즉, 세포의 농도를 증가시키는) 것이 바람직할 수 있다. 가령, 한 구체예에서, 2 십억 세포/ml의 농도가 이용된다. 한 구체예에서, 1 십억 세포/ml의 농도가 이용된다. 추가 구체예에서, 100 백만 세포/ml 이상이 이용된다. 추가 구체예에서, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50 백만 세포/ml의 세포 농도가 이용된다. 또 다른 구체예에서, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 백만 세포/ml의 세포 농도가 이용된다. 추가 구체예에서, 125 또는 150 백만 세포/ml의 농도가 이용될 수 있다. 높은 농도를 이용하는 것은 증가된 세포 수율, 세포 활성화 및 세포 확대를 유발할 수 있다. 게다가, 높은 세포 농도의 이용은 많은 중앙 세포가 존재하는 표본 (즉, 백혈병성 혈액, 종양 조직 등)으로부터, 관심되는 표적 항원, 예를 들면, CD28-음성 T 세포를 약하게 발현할 수 있는 세포의 더욱 효율적인 포획을 허용한다. 이런 세포 개체군은 치료적 가치를 가질 수 있고, 그리고 획득하는데 바람직할 것이다. 가령, 높은 농도의 세포를 이용하는 것은 정상적으로 더욱 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포의 더욱 효율적인 선별을 허용한다.

[0612] 일부 구체예에서, 더욱 낮은 농도의 세포를 이용하는 것이 바람직할 수 있다. T 세포 및 표면 (가령, 입자, 예를 들면, 비드)의 혼합물을 유의미하게 희석함으로써, 이들 입자 및 세포 사이의 상호작용이 최소화된다. 이것은 입자에 결합되는 많은 양의 원하는 항원을 발현하는 세포를 선별한다. 가령, CD4+ T 세포는 더욱 높은 수준의 CD28을 발현하고, 그리고 묽은 농도에서 CD8+ T 세포보다 더욱 효율적으로 포획된다. 일부 구체예에서, 이용되는 세포 농도는 5×10^6 /ml이다. 일부 구체예에서, 이용되는 농도는 약 1×10^5 /ml 내지 1×10^6 /ml, 그리고 중간에 임의의 정수 값일 수 있다.

[0613] 일부 구체예에서, 세포는 2-10℃에서, 또는 실온에서 변하는 속도에서 변하는 시간 길이 동안 회전기에서 배양될 수 있다.

[0614] 자극을 위한 T 세포는 또한, 세척 단계 후 동결될 수 있다. 이론에 의해 한정됨 없이, 동결 및 차후 해동 단계는 세포 개체군에서 과립구 및 얼마간 단핵구를 제거함으로써 더욱 균일한 산물을 제공한다. 혈장 및 혈소판을 제거하는 세척 단계 후, 세포는 동결 용액에서 현탁될 수 있다. 많은 동결 용액 및 파라미터가 당해 분야에서 공지되고 이러한 맥락에서 유용할 것이지만, 한 가지 방법은 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민을 내포하는 PBS, 또는 10% 텍스트란 40 및 5% 텍스트로스, 20% 인간 혈청 알부민 및 7.5% DMSO, 또는 31.25% 플라스말라이트-A, 31.25% 텍스트로스 5%, 0.45% NaCl, 10% 텍스트란 40 및 5% 텍스트로스, 20% 인간 혈청 알부민, 그리고 7.5% DMSO를 내포하는 배양 배지, 또는 예로서, 헤스판 및 플라스말라이트 A를 내포하는 다른 적합한 세포 동결 배지를 이용하는 것을 수반하고, 이들 세포는 이후, 분당 1°의 비율에서 -80℃로 동결되고 액체 질소 보관 탱크의 증기 상에서 보관된다. 제어된 동결을 위한 다른 방법뿐만 아니라 -20℃에서 또는 액체 질소에서 통제되지 않는 즉시 동결이 이용될 수 있다.

[0615] 일부 구체예에서, 냉동보존된 세포는 본원에서 설명된 바와 같이 해동되고 세척되고, 그리고 활성화에 앞서 실온에서 1 시간 동안 안정되도록 허용된다.

[0616] 본원에서 설명된 바와 같은 확대된 세포가 필요할지도 모르는 때보다 앞선 기간에서 개체로부터 혈액 표본 또는 성분채집물 산물의 수집이 본 출원에서 또한 예기된다. 따라서, 확대되는 세포의 공급원은 필요한 임의의 시점에서 수집될 수 있고, 그리고 원하는 세포, 예를 들면, T 세포는 T 세포 요법으로부터 이익을 얻을 수많은 질환 또는 장애, 예를 들면, 본원에서 설명된 것들에 대한 T 세포 요법에서 추후 이용을 위해 단리되고 동결될 수 있다. 한 구체예에서, 혈액 표본 또는 성분채집물은 전반적으로 건강한 개체로부터 채취된다. 일정한 구체예에서, 혈액 표본 또는 성분채집물은 질환이 발달할 위험에 처해있지만, 아직 질환이 발달하지 않은 전반적으로 건강한 개체로부터 채취되고, 그리고 관심되는 세포는 추후 이용을 위해 단리되고 동결된다. 일정한 구체예에서, T 세포는 확대되고, 동결되고, 그리고 추후 시점에 이용될 수 있다. 일정한 구체예에서, 표본은 본원에서 설명된 바와 같은 특정 질환의 진단 직후에, 하지만 임의의 치료에 앞서 환자로부터 수집된다. 추가 구체예에서, 세포는 작용제, 예를 들면, 나탈리주맙, 에팔리주맙, 항바이러스제, 화학요법, 방사선, 면역억제제, 예를 들면, 시클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉사트, 미코페놀레이트 및 FK506, 항체, 또는 다른 면역절제 작용제, 예를 들면, 캄페스, 항-CD3 항체, 사이토산, 플루다라빈, 시클로스포린, FK506, 라파마이신, 마이코페놀산, 스테로이드,

FR901228 및 방사선조사로 치료를 포함하지만 이들에 한정되지 않는 수많은 유관한 치료 양상에 앞서 개체로부터 혈액 표본 또는 성분채집물로부터 단리된다. 이들 약물은 칼슘 의존성 포스포타아제 칼시뉴린을 저해하거나 (시클로스포린 및 FK506), 또는 성장 인자 유도된 신호전달에 중요한 p70S6 키나아제를 저해한다 (라파마이신) (Liu et al., Cell 66:807-815, 1991; Henderson et al., Immun 73:316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993). 추가 구체예에서, 세포는 환자에 대해 단리되고, 그리고 골수 또는 줄기 세포 이식, 화학요법 작용제, 예를 들면, 플루다라빈을 이용한 T 세포 절제 요법, 외부 빔 방사선 요법 (XRT), 시클로포스파미드, 또는 항체, 예를 들면, OKT3 또는 캠페스와 함께 (가령, 이전에, 동시에 또는 이후에) 추후 이용을 위해 동결된다. 다른 구체예에서, 세포는 B-세포 절제 요법, 예를 들면, CD20과 반응하는 작용제, 예를 들면, 리툭산 이후에 치료에 앞서 단리되고, 그리고 치료에 추후 이용을 위해 동결될 수 있다.

[0617] 일부 구체예에서, T 세포는 치료 이후에 직접적으로 환자로부터 획득된다. 이점에 관하여, 일정한 암 치료, 특히 면역계를 손상시키는 약물로 치료 이후에, 환자가 치료로부터 정상적으로 회복할 기간 동안 치료 직후에, 획득된 T 세포의 품질은 탈체에서 확대되는 그들의 능력에 대해 최적이거나 또는 향상될 수 있는 것으로 관찰되었다. 유사하게, 본원에서 설명된 방법을 이용한 탈체 조작 이후에, 이들 세포는 증강된 이식 및 생체내 확대를 위한 바람직한 상태에 있을 수 있다. 따라서, 본 발명의 맥락 내에서, 이러한 회복 시기 동안 T 세포, 수지상 세포, 또는 조혈 계통의 다른 세포를 비롯한 혈액 세포를 수집하는 것이 예기된다. 게다가, 일정한 구체예에서, 동원 (가령, GM-CSF로 동원) 및 조건화 섭생이 개체에서, 특히 요법 이후에 규정된 시간 윈도우 동안, 특정 세포 유형의 재증식, 재순환, 재생 및/또는 확대가 선호되는 상태를 창출하는데 이용될 수 있다. 예시적인 세포 유형은 T 세포, B 세포, 수지상 세포, 그리고 면역계의 다른 세포를 포함한다.

[0618] 2. T 세포의 활성화 및 확대

[0619] 본원에서 설명된 CARs로 T 세포의 유전자 변형 전 또는 후 인지에 상관없이, T 세포는 예로서, U.S. 특허 번호 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 6,867,041; 그리고 U.S. 특허 출원 공개 번호 20060121005에서 설명된 바와 같은 방법을 이용하여 활성화되고 전반적으로 확대될 수 있다.

[0620] 일반적으로, T 세포는 CD3/TCR 복합체 연관된 신호를 자극하는 작용제 및 T 세포의 표면 상에서 동시자극성 분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 확대될 수 있다. 특히, T 세포 개체군은 본원에서 설명된 바와 같이, 예를 들면, 표면 위에 고정된 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 항-CD2 항체와의 접촉에 의해, 또는 칼슘 이온운반체와 함께 단백질 키나아제 C 활성화인자 (가령, 브리오스타틴)와의 접촉에 의해 자극될 수 있다. T 세포의 표면 상에서 보조 분자의 동시자극을 위해, 보조 분자에 결합하는 리간드가 이용된다. 가령, T 세포의 개체군은 T 세포의 증식을 자극하기 위한 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 항체. 9.3, B-T3, XR-CD28 (Diacione, Besancon, France)을 비롯한 항-CD28 항체의 실례는 당해 분야에 통상적으로 공지된 다른 방법이 그러한 것처럼 이용될 수 있다 (Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9):13191328, 1999; Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999).

[0621] 일부 구체예에서, T 세포에 대한 일차 자극성 신호 및 동시자극성 신호는 상이한 프로토콜에 의해 제공될 수 있다. 가령, 각 신호를 제공하는 작용제는 용해 상태에 있거나 또는 표면에 연계될 수 있다. 표면에 연계될 때, 작용제는 동일한 표면에 (즉, "시스" 형성에서) 또는 별개의 표면에 (즉, "트랜스" 형성에서) 연계될 수 있다. 대안으로, 한 작용제는 표면에 연계될 수 있고 다른 작용제는 용해 상태에 있을 수 있다. 한 구체예에서, 동시 자극성 신호를 제공하는 작용제는 세포 표면에 결합되고, 그리고 일차 활성화 신호를 제공하는 작용제는 용해 상태에 있거나 또는 표면에 연계된다. 일정한 구체예에서, 양쪽 작용제가 용해 상태에 있을 수 있다. 다른 구체예에서, 작용제는 가용성 형태에 있을 수 있고, 그리고 이후, 표면, 예를 들면, Fc 수용체를 발현하는 세포, 또는 이들 작용제에 결합할 항체 또는 다른 결합 작용제에 교차연결된다. 이점에 관하여, 가령, 본 발명에서 T 세포를 활성화하고 확대하는데 이용이 예기되는 인공 항원 제시 세포 (aAPCs)에 대해 U.S. 특허 출원 공개 번호 20040101519 및 20060034810을 참조한다.

[0622] 일부 구체예에서, T 세포는 작용제-코팅된 비드와 합동되고, 이들 비드 및 세포는 차후에 분리되고, 그리고 이후, 이들 세포는 배양된다. 대안적 구체예에서, 배양에 앞서, 작용제-코팅된 비드 및 세포는 분리되지 않고 함께 배양된다. 추가 구체예에서, 이들 비드 및 세포는 먼저 힘, 예를 들면, 자기력의 적용에 의해 농축되어, 세포 표면 마커의 증가된 결찰을 유발하고, 따라서 세포 자극을 유도한다.

[0623] 실례로서, 세포 표면 단백질은 항-CD3 및 항-CD28이 부착되는 상자성 비드 (3x28 비드)가 T 세포에 접촉하도록

허용함으로써 결합될 수 있다. 한 구체예에서, 세포 (가령, 10^4 내지 10^9 T 세포) 및 비드 (가령, 1:1의 비율에서 DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T 상자성 비드)는 완충액, 바람직하게는 PBS (이온 양이온, 예를 들면, 칼슘 및 마그네슘이 없는)에서 합동된다. 다시 한 번, 당업자는 임의의 세포 농도가 이용될 수 있다는 것을 쉽게 인지할 수 있다. 가령, 표적 세포가 표본 내에서 매우 희귀하고 표본의 단지 0.01%만을 구성할 수 있거나 또는 전체 표본 (즉, 100%)이 관심되는 표적 세포를 포함할 수 있다. 따라서, 임의의 세포 숫자는 본 발명의 맥락 안에 있다. 일정한 구체예에서, 세포 및 입자의 최대 접촉을 담보하기 위해, 입자 및 세포가 함께 혼합되는 용적을 유의미하게 감소시키는 (즉, 세포 농도를 증가시키는) 것이 바람직할 수 있다. 가령, 한 구체예에서, 약 2 십억 세포/ml의 농도가 이용된다. 다른 구체예에서, 100 백만 세포/ml 이상이 이용된다. 추가 구체예에서, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50 백만 세포/ml의 세포 농도가 이용된다. 또 다른 구체예에서, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 백만 세포/ml의 세포 농도가 이용된다. 추가 구체예에서, 125 또는 150 백만 세포/ml의 농도가 이용될 수 있다. 높은 농도를 이용하는 것은 증가된 세포 수율, 세포 활성화 및 세포 확대를 유발할 수 있다. 게다가, 높은 세포 농도의 이용은 관심되는 표적 항원, 예를 들면, CD28-음성 T 세포를 약하게 발현할 수 있는 세포의 더욱 효율적인 포획을 허용한다. 이런 세포 개체군은 치료적 가치를 가질 수 있고, 그리고 일정한 구체예에서 획득하는 것이 바람직할 것이다. 가령, 높은 농도의 세포를 이용하는 것은 정상적으로 더욱 약한 CD28 발현을 갖는 CD8+ T 세포의 더욱 효율적인 선별을 허용한다.

[0624] 일부 구체예에서, 혼합물은 수 시간 (약 3 시간) 내지 약 14 일 또는 중간에 임의의 시간별 정수 값 동안 배양될 수 있다. 다른 구체예에서, 혼합물은 21 일 동안 배양될 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 비드 및 T 세포는 약 8 일 동안 함께 배양된다. 다른 구체예에서, 비드 및 T 세포는 2-3 일 동안 함께 배양된다. T 세포의 배양 시간이 60 일 또는 그 이상일 수 있도록, 여러 주기의 자극이 또한, 요망될 수 있다. T 세포 배양에 적합한 조건은 혈청 (가령, 태아 소 또는 인간 혈청), 인터류킨-2 (IL-2), 인슐린, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β 및 TNF- α , 또는 당업자에게 공지된 세포의 성장을 위한 임의의 다른 첨가제를 비롯하여, 증식 및 생존력에 필요한 인자를 내포할 수 있는 적절한 배지 (가령, 최소 필수 배지 또는 RPMI 배지 1640 또는, X-vivo 15, (Lonza))를 포함한다. 세포의 성장을 위한 다른 첨가제는 계면활성제, 플라스마네이트, 그리고 환원제, 예를 들면, N-아세틸-시스테인 및 2-메르캅토에탄올을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 배지는 RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, X-Vivo 15 및 X-Vivo 20, Optimizer를 포함할 수 있는데, 혈청이 없거나, 또는 적절한 양의 혈청 (또는 혈장) 또는 규정된 세트의 호르몬 및/또는 T 세포의 성장 및 확대에 충분한 사이토킨(들)의 양으로 보충된 아미노산, 나트륨 피루브산염 및 비타민이 첨가된다. 항생제, 예를 들면, 페니실린 및 스트렙토마이신은 단지 실험적 배양액에만 포함되고, 개체 내로 주입되는 세포의 배양액에는 포함되지 않는다. 표적 세포는 성장을 뒷받침하는데 필요한 조건, 예를 들면, 적절한 온도 (가령, 37 °C) 및 대기 (가령, 공기 플러스 5% CO₂) 하에 유지된다. 변하는 자극 시간에 노출된 T 세포는 상이한 특징을 전시킬 수 있다. 가령, 전형적인 혈액 또는 성분채집된 말초혈 단핵 세포 산물은 세포독성 또는 억제 T 세포 개체군 (TC, CD8)보다 큰 보조 T 세포 개체군 (TH, CD4+)을 갖는다. CD3 및 CD28 수용체를 자극함으로써 T 세포의 탈체 확대는 약 8-9 일에 앞서 TH 세포로 지배적으로 구성되는 T 세포의 개체군을 생산하고, 반면 약 8-9 일 후에, T 세포의 개체군은 TC 세포의 점점 더 큰 개체군을 포함한다. 따라서, 치료의 목적에 따라, 개체에 TH 세포로 지배적으로 구성되는 T 세포 개체군을 주입하는 것이 유리할 수 있다. 유사하게, TC 세포의 항원 특이적 부분집합이 단리되면, 이러한 부분집합을 더욱 큰 정도까지 확대하는 것이 유익할 수 있다.

[0625] 게다가, CD4 및 CD8 마커에 더하여, 다른 표현형 마커가 유의미하게 변하지만, 대부분은 세포 확대 과정의 코스 동안 재현적이다. 따라서, 이런 재현성은 활성화된 T 세포 산물을 특정한 목적으로 재단하는 능력을 가능하게 할 수 있다.

[0626] V. 제약학적 조성물

[0627] 단일-도메인 항체 (가령, 항-CD19, 항-CD20, 항-BCMA, 또는 항-CD38 sdAbs) 중에서 한 가지, 또는 본원에서 설명된 바와 같은 CARs 중에서 한 가지를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 중에서 한 가지, 그리고 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물이 본 출원에 의해 더욱 제공된다. 제약학적 조성물은 동결건조된 제제 또는 수성 용액의 형태에서, 단일-도메인 항체, 또는 원하는 정도의 순도를 갖는 복수의 가공된 면역 작동체 세포를 임의선택적 제약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정제와 혼합함으로써 제조될 수 있다 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)).

[0628] 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정제는 이용된 용량 및 농도에서 수용자에 비독성이고, 그리고 완충액, 아스코르빈산, 메티오닌, 비타민 E, 메타중아황산나트륨을 비롯한 항산화제; 보존제, 등장화제, 안정제, 금속 착물

(가령, Zn-단백질 복합체); 킬레이트화제, 예를 들면, EDTA 및/또는 비이온성 계면활성제를 포함한다.

- [0629] 완충액은 특히, 안정성이 pH 의존성이면, 치료 효과를 최적화하는 범위에서 pH를 제어하는데 이용된다. 완충액은 바람직하게는, 약 50 mM 내지 약 250 mM 범위에서 변하는 농도에서 존재한다. 본 발명에서 사용하기 적합한 완충제는 유기 및 무기 산 둘 모두 및 이들의 염을 포함한다. 가령, 구연산염, 인산염, 숙신산염, 주석산염, 푸마르산염, 글루콘산염, 옥살산염, 젖산염, 아세트산염. 추가적으로, 완충액은 히스티딘 및 트리메틸아민 염, 예를 들면, Tris를 포함할 수 있다.
- [0630] 보존제는 미생물 성장을 지연시키기 위해 첨가되고, 그리고 전형적으로, 0.2%-1.0% (w/v)의 범위 내에 존재한다. 본 발명에서 사용하기 적합한 보존제는 옥타데실디메틸벤질 염화암모늄; 헥사메토늄 염화물; 벤잘코늄 할로겐화물 (가령, 염화물, 브롬화물, 요오드화물), 벤제토늄 염화물; 티메로살, 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예를 들면, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 시클로헥산올, 3-펜탄올 및 m-크레졸을 포함한다.
- [0631] 때때로 "안정제"로서 알려져 있는 긴장성 작용제는 조성물 내에 액체의 긴장성을 조정하거나 또는 유지하기 위해 존재한다. 큰, 하전된 생체분자, 예를 들면, 단백질 및 항체와 함께 이용될 때, 이들은 종종 "안정제"로 명명되는데, 그 이유는 이들이 아미노산 측쇄의 하전된 기와 상호작용하고, 따라서 분자간 및 분자내 상호작용에 대한 잠재력을 줄일 수 있기 때문이다. 긴장성 작용제는 다른 성분의 상대적 양을 고려하여, 중량으로 0.1% 내지 25%, 바람직하게는 1 내지 5% 사이에 임의의 양으로 존재할 수 있다. 바람직한 긴장성 작용제는 다가 당 알코올, 바람직하게는 삼가 또는 그 이상의 당 알코올, 예를 들면, 글리세린, 에리트리톨, 아라비톨, 자일리톨, 소르비톨 및 만니톨을 포함한다.
- [0632] 추가 부형제는 (1) 증량제, (2) 용해도 개선제, (3) 안정제 및 (4) 변성 또는 용기 벽에 부착을 예방하는 작용제 중에서 하나 또는 그 이상으로서 역할을 할 수 있는 작용제를 포함한다. 이런 부형제는 다음을 포함한다: 다가 당 알코올 (상기 열거된); 아미노산, 예를 들면, 알라닌, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 리신, 오르니틴, 류신, 2-페닐알라닌, 글루타민산, 트레오닌 등; 유기 당 또는 당 알코올, 예를 들면, 수크로오스, 락토오스, 락티톨, 트레할로스, 스타키오스, 만노오스, 소르보스, 자일로오스, 리보오스, 리비톨, 미오이니시토스, 미오이노시톨, 갈락토오스, 갈락티톨, 글리세롤, 시클리톨 (가령, 이노시톨), 폴리에틸렌 글리콜; 황 내포 환원제, 예를 들면, 요소, 글루타티온, 티옥산, 나트륨 티오글리콜레이트, 티오글리세롤, α -모노티오글리세롤 및 나트륨 티오 황산염; 저분자량 단백질, 예를 들면, 인간 혈청 알부민, 소 혈청 알부민, 젤라틴 또는 다른 면역글로불린; 친수성 중합체, 예를 들면, 폴리비닐피롤리돈; 단당류 (가령, 자일로오스, 만노오스, 프룩토오스, 글루코오스; 이당류 (가령, 락토오스, 말토오스, 수크로오스); 삼당류, 예를 들면, 라피노오스; 및 다당류, 예를 들면, 텍스트린 또는 텍스트란.
- [0633] 비이온성 계면활성제 또는 세정제 ("적십제"로서 또한 알려져 있음)가 치료적 작용제를 가용화시킬 뿐만 아니라 교반-유도된 응집에 대항하여 치료적 단백질을 보호하는데 도움을 주기 위해 존재하는데, 이것은 또한, 활성 치료적 단백질 또는 항체의 변성을 유발하지 않으면서, 제제가 전단 표면 스트레스에 노출되도록 허용한다. 비이온성 계면활성제는 약 0.05 mg/mL 내지 약 1.0 mg/mL, 바람직하게는 약 0.07 mg/mL 내지 약 0.2 mg/mL의 범위에서 존재한다.
- [0634] 적합한 비이온성 계면활성제는 폴리소르베이트 (20, 40, 60, 65, 80 등), 폴리옥사머 (184, 188 등), PLURONIC® 폴리올, TRITON®, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노에테르 (TWEEN®-20, TWEEN®-80 등), 라우로마크로콜 400, 폴리옥실 40 스테아르산염, 폴리옥시에틸렌 수소첨가된 피마자유 10, 50 및 60, 글리세롤 모노스테아레이트, 수크로오스 지방산 에스테르, 메틸 셀룰로오스 및 카르복시메틸 셀룰로오스를 포함한다. 이용될 수 있는 음이온성 세정제는 나트륨 라우릴 황산염, 디옥틸 나트륨 술포숙시네이트 및 디옥틸 나트륨 술포산염을 포함한다. 양이온성 세정제는 벤잘코늄 염화물 또는 벤제토늄 염화물을 포함한다.
- [0635] 제약학적 조성물이 생체내 투여에 이용되기 위해, 이들은 무균이어야 한다. 제약학적 조성물은 무균 여과 막을 통한 여과에 의해 무균이 되도록 만들어질 수 있다. 본원에서 제약학적 조성물은 일반적으로, 무균 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들면, 피하 주사 바늘에 의해 관통가능한 마개를 갖는 정맥내 용액 가방 또는 바이알 내로 배치된다.
- [0636] 투여 루트는 공지되고 인정된 방법에 따른다, 가령, 적합한 방식으로 긴 기간에 걸쳐 단일 또는 복수 일시 주사 또는 주입, 예를 들면, 피하, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 병소내 또는 관절내 루트에 의한 주사 또는 주입, 국소 투여, 흡입 또는 지속된 방출 또는 연장된-방출 수단에 의한다.

- [0637] 지속된 방출 제조물이 제조될 수 있다. 지속된 방출 제조물의 적합한 실례는 길항제를 내포하는 고체 소수성 중합체의 반투성 매트릭스를 포함하고, 여기서 이들 매트릭스는 성형된 물품, 예를 들면, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속된 방출 매트릭스의 실례는 폴리에스테르, 하이드로겔 (가령, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알코올)), 폴리락티드 (U.S. 특허 번호 3,773,919), L-글루타민산과 . 에틸-L-글루타민산염의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세트산염, 분해성 젯산-글리콜산 공중합체, 예를 들면, LUPRON DEPOT™ (젯산-글리콜산 공중합체 및 류프롤라이드 아세트산염으로 구성된 주사가능 마이크로스피어), 그리고 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다.
- [0638] 본원에서 설명된 제약학적 조성물은 치료되는 특정 징후에 대해 필요에 따라 하나 이상의 활성 화합물 또는 작용제, 바람직하게는 서로에 부정적인 영향을 주지 않는 상보성 활성을 갖는 것들을 또한 내포할 수 있다. 대안으로, 또는 이에 더하여, 조성물은 세포독성 작용제, 화학요법 작용제, 사이토킨, 면역억제제, 또는 성장 저해성 작용제를 포함할 수 있다. 이런 분자는 의도된 목적에 효과적인 양에서 합동으로 적절히 존재한다.
- [0639] 활성 성분은 또한, 예로서 액적형성 기술에 의해 또는 계면 중합화에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들면, 각각, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (가령, 리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로유제, 나노입자 및 나노캡슐)에서 또는 마이크로유제에서 히드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에 포획될 수 있다. 이런 기술은 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 18th edition에서 개시된다.
- [0640] **VI. 암을 치료하는 방법**
- [0641] 본 출원은 세포 면역요법에서 이용을 위한 방법 및 조성물에 더욱 관계한다. 일부 구체예에서, 세포 면역요법은 혈액학적 악성 및 고형 종양을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 암을 치료하기 위한 것이다. 본원에서 설명된 단일-도메인 항체, 키메라 항원 수용체 및 가공된 면역 작동체 세포 중에서 한 가지가 암을 치료하는 방법에서 이용될 수 있다. 본원에서 설명된 CARs는 항원 상실 도피 돌연변이를 갖는 종양을 치료하고, 그리고 현존하는 요법에 대한 내성을 감소시키는데 유용할 수 있다. 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 방법과 조성물은 예로서, 자가면역 질환을 비롯하여, 단일-도메인 항체 또는 CARs에 의해 특이적으로 인식되는 항원과 연관되는 다른 질환을 치료하는데 이용될 수 있다.
- [0642] 일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 첫 번째 항원 (가령, 첫 번째 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 두 번째 항원 (가령, 두 번째 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다중특이적 (가령, 이중특이적) 키메라 항원 수용체 (CAR)를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포), 여기서 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 상이하고; 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체. 일부 구체예에서, 첫 번째 항원 및/또는 두 번째 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 단일-도메인 항체 및 두 번째 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시 자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시 자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시 자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다중특이적 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시 자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시 자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시 자

극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이계이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암, 예를 들면, 다발성 골수종, 급성 림프구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다. 일부 구체예에서, 암은 고형암이다.

[0643]

일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 항-BCMA 단일-도메인 항체 및 항-CD38 단일-도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA x CD38 CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포); 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb 및/또는 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체 및 항-CD38 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 항-CD38 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 항-CD38 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 항-BCMA 단일-도메인 항체는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD38 항체는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA x CD38 CAR은 서열 번호: 207-216으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이계이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암이다. 일부 구체예에서, 액상암은 다발성 골수종이다.

[0644]

일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 항-CD19 단일-도메인 항체 및 항-CD20 단일-도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 x CD20 CAR; 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb 및/또는 항-CD20 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 단일-도메인 항체 및 항-CD20 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 N 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 항-CD20 sdAb의 C 말단에서 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이

에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 항-CD19 단일 도메인 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 x CD20 CAR은 서열 번호: 206의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이계이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암이다. 일부 구체예에서, 액상암은 B-세포 림프종이다.

[0645]

일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 항원 (가령, 종양 항원)에 특이적으로 결합하는 복수의 단일-도메인 항체 (sdAbs)를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 키메라 항원 수용체를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포); 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체. 일부 구체예에서, 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 복수의 sdAbs는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 복수의 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 각 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 서열 번호: 198-201 및 265-270으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이계이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암, 예를 들면, 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다. 일부 구체예에서, 암은 고형암이다.

[0646]

일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 항원 (가령, 종양 항원)의 첫 번째 에피토프에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인 및 상기 항원의 두 번째 에피토프에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 다가 키메라 항원 수용체를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포), 여기서 첫 번째 에피토프 및 두 번째 에피토프는 상이하고; 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체. 일부 구체예에서, 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 단일-도메인 항체 및 두 번째 단일-도메인 항체는 펩티드 결합 또는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 이내 (가령, 약 35, 25, 20, 15, 10, 또는 5개 이내)의 아미노산 길이이다. 일부 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신

호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 다가 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암, 예를 들면, 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다. 일부 구체예에서, 암은 고형암이다.

[0647]

일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 항-CD19 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD19 키메라 항원 수용체를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포), 여기서 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 1의 아미노산 서열, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD19 CAR은 서열 번호: 248의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암, 예를 들면, 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다. 일부 구체예에서, 암은 고형암이다.

[0648]

일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 항-CD20 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD20 CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포), 여기서 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 4의 아미노산 서열, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하고; 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 244의 아미노산 서열을 포함하는 FR1, 서열 번호: 245의 아미노산 서열을 포함하는 FR2, 서열 번호: 246의 아미노산 서열을 포함하는 FR3 및/또는 서열 번호: 247의 아미노산 서열을 포함하는 FR4를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 세포의 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD20 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포의 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동

시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD20 CAR는 서열 번호: 249의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, CD20 CAR는 서열 번호: 249의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이계이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암, 예를 들면, 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다. 일부 구체예에서, 암은 고형암이다.

- [0649] 일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 BCMA CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포); 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체, 여기서 항-BCMA sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0650] (23) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0651] (24) 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0652] (25) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0653] (26) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0654] (27) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0655] (28) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0656] (29) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0657] (30) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0658] (31) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0659] (32) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0660] (33) 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0661] 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 78-88로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호

호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, BCMA CAR은 서열 번호: 152-162로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이체이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암, 예를 들면, 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다. 일부 구체예에서, 암은 고형암이다.

- [0662] 일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 하기를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다: (1) (a) 항-CD38 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 CD38 CAR을 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포); 그리고 (2) 제약학적으로 허용되는 담체, 여기서 항-BCMA sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0663] (25) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0664] (26) 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0665] (27) 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0666] (28) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0667] (29) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0668] (30) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0669] (31) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0670] (32) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0671] (33) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0672] (34) 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0673] (35) 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0674] (36) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0675] 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다. 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 서열 번호: 89-100으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인 (가령, CD8 α 힌지 도메인)을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드 (가령, CD8 α 신호 펩티드)를 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호

펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28로부터 유래된 첫 번째 동시자극성 신호전달 도메인, CD137로부터 유래된 두 번째 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: CD8 α 신호 펩티드, 세포외 항원 결합 도메인, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137로부터 유래된 동시자극성 신호전달 도메인, 그리고 CD3 ζ 으로부터 유래된 일차 세포내 신호전달 도메인. 일부 구체예에서, CD38 CAR은 서열 번호: 163-174로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다. 일부 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이제이다. 일부 구체예에서, 암은 액상암, 예를 들면, 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다. 일부 구체예에서, 암은 고형암이다.

- [0676] 일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 질환 (가령, 암)을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 항-CD19 단일-도메인 항체 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 항-CD19 단일-도메인 항체는 (a) 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 3개의 CDRs를 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0677] 일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 질환 (가령, 암)을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 항-CD19 단일-도메인 항체 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 항-CD20 단일-도메인 항체는 (a) 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; (b) 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 및 (c) 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 3개의 CDRs를 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0678] 일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 질환 (가령, 암)을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 항-BCMA 단일-도메인 항체 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 항-BCMA sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0679] (1) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0680] (2) 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0681] (3) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0682] (4) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0683] (5) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0684] (6) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0685] (7) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0686] (8) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0687] (9) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0688] (10) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0689] (11) 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고

고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.

- [0690] 일부 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 78-88로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0691] 일부 구체예에서, 개체 (가령, 인간 개체)에서 질환 (가령, 암)을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 개체에 항-CD38 단일-도메인 항체 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 항-CD38 sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다: 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0692] (1) 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0693] (2) 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0694] (3) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0695] (4) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0696] (5) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0697] (6) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0698] (7) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0699] (8) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0700] (9) 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0701] (10) 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0702] (11) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0703] 일부 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 서열 번호: 89-100으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0704] 본원에서 설명된 방법은 고형암 및 액상암 둘 모두를 비롯한 다양한 암을 치료하는데 적합하다. 이들 방법은 초기 단계, 진행된 단계 및 전이성 암을 비롯하여, 모든 시기의 암에 적용가능하다. 본원에서 설명된 방법은 어췀번트 세팅 또는 네오어췀번트 세팅에서, 당해 분야에서 공지된 다른 유형의 암 요법, 예를 들면, 화학요법, 수술, 방사선, 유전자 요법, 면역요법, 골수 이식, 줄기 세포 이식, 표적화된 요법, 냉동요법, 초음파 요법, 광역학 요법, 고주파 제거 또는 기타 유사한 것과 함께 첫 번째 요법, 두 번째 요법, 세 번째 요법, 또는 복합 요법으로서 이용될 수 있다.
- [0705] 제약학적 조성물의 투여는 주사, 섭취, 수혈, 주입 또는 이식에 의한 것을 비롯하여, 임의의 편의한 방식으로 실행될 수 있다. 조성물은 환자에 경동맥, 피하, 피내, 종양내, 결절내, 척수내, 근육내, 정맥내, 또는 복강내 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 전신 투여된다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 주입, 예를 들면, 정맥내 주입에 의해 개체에 투여된다. 면역요법을 위한 주입 기술은 당해 분야에서 공지된다 (가령, Rosenberg *et al.*, New Eng. J. of Med. 319: 1676 (1988)을 참조한다). 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 피내 또는 피하 주사에 의해 개체에 투여된다. 일부 구체예에서, 조성물은 정맥내 주사에 의해 투여된다. 일부 구체예에서, 조성물은 종양, 또는 림프절 내로 직접적으로 주사된다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 종양 부위에 국부 투여된다, 예를 들면, 종양 세포 내로, 또는 종양 세포를 갖는 조직에 직접적으

로 투여된다.

[0706] 다발성 골수종 (MM)은 불치의 공격적인 혈장 악성인데, 이것은 B-세포 신생물로서 분류되고 골수에서 통제할 수 없는 방법으로 증식하고, 혈액 세포의 정상적인 물질대사 생산을 간섭하고, 고통스러운 뼈 병변을 유발한다 (Garfall, A.L. *et al.*, *Discovery Med.* 2014, 17, 37). 다발성 골수종은 고칼슘혈증, 신장 부전증, 빈혈, 뼈 병변, 세균 감염, 파다점도 및 아밀로이드증이 임상적으로 나타날 수 있다 (Robert Z. Orłowski, *Cancer Cell.* 2013, 24(3)). 조사 및 통계에 따르면, 거의 86,000명 환자가 매년 골수종으로 진단될 것이고, 그리고 약 63,000명 환자가 상기 질환-관련된 합병증으로 매년 사망한다 (Becker, 2011). 노화 인구 때문에, 골수종의 사례의 숫자는 해마다 증가할 것으로 예측된다. 많은 암과 유사하게, 다발성 골수종의 공지된 원인이 없고, 그리고 치료법도 없다. 다발성 골수종에 대한 일부 치료법은 다른 암에 대한 치료법, 예를 들면, 화학요법 또는 방사선 요법, 줄기 세포 이식 또는 골수 이식, 표적화된 요법 또는 생물학적 요법과 유사하다 (George, 2014). 항체-기초된 세포 면역요법은 혈액학적 악성, 특정 B 세포 비호지킨 림프종을 앓는 환자에 대한 실제적인 임상적 유익성을 증명하였다. 다발성 골수종을 치료하기 위한 효과적인 면역치료적 작용제가 요구된다.

[0707] 본 발명의 제약학적 조성물의 용량 및 원하는 약물 농도는 구상된 특정 용도에 따라 변할 수 있다. 적절한 용량 또는 투여 루트의 결정은 당업자의 기술 범위 내에 있다. 동물 실험은 인간 요법을 위한 유효 용량의 결정을 위한 신뢰할 만한 보도를 제공한다. 유효 용량의 중간 척도화는 Mordenti, J. and Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics," In *Toxicokinetics and New Drug Development*, Yacobi *et al.*, Eds, Pergamon Press, New York 1989, pp. 42-46에 의해 규정된 원리에 따라서 수행될 수 있다. 상이한 제제가 상이한 치료 및 상이한 장애에 효과적일 것이고, 그리고 특정한 장기 또는 조직을 치료하도록 의도된 투여가 다른 장기 또는 조직으로 전달과 상이한 방식으로 전달을 필요하게 만들 수 있다는 것은 본 출원의 범위 내에 있다.

[0708] 제약학적 조성물이 본원에서 설명된 단일-도메인 항체 중에서 한 가지를 포함하는 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 투여 루트에 따라, 하루에 약 10 ng/kg 내지 약 100 mg/kg의 개체 체중 또는 그 이상, 예를 들면, 약 1 mg/kg/일 내지 10 mg/kg/일의 ta 용량에서 투여된다. 특정 용량 및 전달 방법에 대한 보도는 기존 문헌에서 제공된다; 가령, U.S. 특허 번호 4,657,760; 5,206,344; 또는 5,225,212를 참조한다.

[0709] 제약학적 조성물이 본원에서 설명된 가공된 면역 세포 중에서 한 가지를 포함하는 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 최소한 약 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 또는 10^9 세포/kg의 개체 체중 중에서 한 가지의 용량에서 투여된다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 약 10^4 내지 약 10^5 , 약 10^5 내지 약 10^6 , 약 10^6 내지 약 10^7 , 약 10^7 내지 약 10^8 , 약 10^8 내지 약 10^9 , 약 10^4 내지 약 10^9 , 약 10^4 내지 약 10^6 , 약 10^6 내지 약 10^8 , 또는 약 10^5 내지 약 10^7 세포/kg의 개체 체중 중에서 한 가지의 용량에서 투여된다.

[0710] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 단일 회 동안 투여된다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 복수 회 (가령, 2, 3, 4, 5, 6회, 또는 그 이상 중에서 한 가지) 동안 투여된다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 주 1회, 주 2회, 주 3회, 주 4회, 월 1회, 2 개월마다 1회, 3 개월마다 1회, 4 개월마다 1회, 5 개월마다 1회, 6 개월마다 1회, 7 개월마다 1회, 8 개월마다 1회, 9 개월마다 1회, 또는 연 1회 투여된다. 일부 구체예에서, 투여 사이에 간격은 약 1 주 내지 2 주, 2 주 내지 1 개월, 2 주 내지 2 개월, 1 개월 내지 2 개월, 1 개월 내지 3 개월, 3 개월 내지 6 개월, 또는 6 개월 내지 1 년 중에서 한 가지이다. 특정 환자에 대한 최적 용량 및 치료 섭생은 환자를 질환의 징후에 대해 모니터링하고, 따라서 치료를 조정함으로써 약학 분야의 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다.

[0711] 게다가, 용량은 하나 또는 그 이상의 별개 투여에 의해, 또는 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 수일 또는 더욱 긴 기간 동안 반복된 투여의 경우에, 질환에 따라, 치료는 질환 증상의 원하는 억제가 발생할 때까지 지속된다. 하지만, 다른 투약 섭생이 유용할 수 있다. 이러한 요법의 진행은 전통적인 기술과 검정에 의해 쉽게 모니터링된다.

[0712] VII. 키트 및 제조 물품

[0713] 본원에서 설명된 단일-도메인 항체, 키메라 항원 수용체, 또는 가공된 면역 작동체 세포 중에서 한 가지를 포함하는 키트, 단위 용량 및 제조 물품이 더욱 제공된다. 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 제약학적 조성물 중에서 한 가지를 내포하고 바람직하게는, 이의 이용을 위한 사용설명서를 제공하는 키트가 제공된다.

[0714] 본 출원의 키트는 적합한 포장 내에 있다. 적합한 포장은 바이알, 병, 향아리, 유연한 포장 (가령, 밀봉된

Mylar 또는 플라스틱 가방), 기타 등등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 키트는 추가 성분, 예를 들면, 완충액 및 해석 정보를 임의선택적으로 제공할 수 있다. 본 출원은 따라서, 제조 물품을 또한 제공하고, 이들은 바이알 (가령, 밀봉된 바이알), 병, 향아리, 유연한 포장, 기타 등등을 포함한다.

- [0715] 제조 물품은 용기 및 용기 상에 또는 용기와 결합된 라벨 또는 포장 삽입물을 포함할 수 있다. 적절한 용기에는 예로서, 병, 바이알, 주사기 등이 포함된다. 이들 용기는 다양한 물질, 예를 들면, 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 일반적으로, 용기는 본원에서 설명된 질환 또는 장애 (가령, 암)를 치료하는데 효과적인 조성물을 보유하고, 그리고 무균 접근 포트를 가질 수 있다 (가령, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 관통되는 막개를 갖는 정맥내 용액 가방 또는 바이알일 수 있다). 라벨 또는 포장 삽입물은 조성물이 개체에서 특정 질환을 치료하는데 이용된다는 것을 표시한다. 라벨 또는 포장 삽입물은 조성물을 개체에 투여하기 위한 사용설명서를 더욱 포함할 것이다. 표지는 재구성 및/또는 이용을 위한 방향을 지시할 수 있다. 제약학적 조성물을 유지하는 용기는 복수 이용 바이알일 수 있는데, 이것은 재구성된 제제의 반복 투여 (가령, 2-6회 투여)를 허용한다. 포장 삽입물은 이런 치료적 산물의 이용과 관련된 징후, 용법, 용량, 투여, 금기 및/또는 주의사항에 관한 정보를 내포하는, 치료적 산물의 상업적인 포장에 관례적으로 포함되는 사용설명서를 지칭한다. 부가적으로, 제조 물품은 제약학적으로 허용되는 완충액, 예를 들면, 주사용 정균수 (BWFI), 인산염-완충된 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 두 번째 용기를 더욱 포함할 수도 있다. 이것은 다른 완충액, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 비롯하여, 상업적 관점 및 이용자 관점으로부터 바람직한 다른 물질을 더욱 포함할 수도 있다.
- [0716] 키트 또는 제조 물품은 약국, 예를 들면, 병원 약국 및 처방 약국에서 보관 및 이용을 위한 충분한 양으로 포장된 복수 단위 용량의 제약학적 조성물 및 사용설명서를 포함할 수 있다.
- [0717] 아래의 실시예 및 예시적인 구체예는 본 발명의 순수한 예시인 것으로 의도되고, 그리고 이런 이유로, 본 발명을 어떤 방식으로든 제한하는 것으로 고려되지 않아야 한다. 다음 실시예 및 상세한 설명은 제한이 아닌 예시의 방식에 의하여 제공된다.
- [0718] 예시적인 구체예
- [0719] 구체예 1. 일부 구체예에서, (a) 첫 번째 항원에 특이적으로 결합하는 첫 번째 단일-도메인 항체 (sdAb) 및 두 번째 항원에 특이적으로 결합하는 두 번째 단일-도메인 항체 (sdAb)를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)가 제공된다.
- [0720] 구체예 2. 구체예 1의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 상이하다.
- [0721] 구체예 3. 구체예 2의 일부 추가의 구체예에서, CAR은 다중특이적이다.
- [0722] 구체예 4. 구체예 3의 일부 추가의 구체예에서, CAR은 이중특이적이다.
- [0723] 구체예 5. 구체예 1-4 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 N 말단에서 위치된다.
- [0724] 구체예 6. 구체예 1-4 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb의 C 말단에서 위치된다.
- [0725] 구체예 7. 구체예 1-6 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 항원 및 두 번째 항원은 CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 및 당지질 F77로 구성된 군에서 선택된다.
- [0726] 구체예 8. 구체예 7의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb이다.
- [0727] 구체예 9. 구체예 7의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD38 sdAb이다.
- [0728] 구체예 10. 구체예 7의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이다.
- [0729] 구체예 11. 구체예 7의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD20 sdAb이다.
- [0730] 구체예 12. 구체예 7의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD22 sdAb이다.
- [0731] 구체예 13. 구체예 8의 일부 추가의 구체예에서, CAR은 항-BCMA sdAb의 최소한 2개의 사본을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 포함한다.

- [0732] 구체에 14. 구체에 9의 일부 추가의 구체에에서, CAR은 항-CD38 sdAb의 최소한 2개의 사본을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 포함한다.
- [0733] 구체에 15. 구체에 8 또는 구체에 9의 일부 추가의 구체에에서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD38 sdAb이다.
- [0734] 구체에 16. 구체에 8 또는 구체에 10의 일부 추가의 구체에에서, 첫 번째 sdAb는 항-BCMA sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이다.
- [0735] 구체에 17. 구체에 10 또는 구체에 11의 일부 추가의 구체에에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD20 sdAb이다.
- [0736] 구체에 18. 구체에 10 또는 구체에 12의 일부 추가의 구체에에서, 첫 번째 sdAb는 항-CD19 sdAb이고, 그리고 두 번째 sdAb는 항-CD22 sdAb이다.
- [0737] 구체에 19. 구체에 1-14 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체에에서, 첫 번째 항원은 두 번째 항원과 동일하다.
- [0738] 구체에 20. 구체에 19의 일부 추가의 구체에에서, CAR은 이가 또는 삼가이다.
- [0739] 구체에 21. 구체에 19 또는 구체에 20의 일부 추가의 구체에에서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다.
- [0740] 구체에 22. 구체에 21의 일부 추가의 구체에에서, 첫 번째 sdAb는 두 번째 sdAb와 동일하다.
- [0741] 구체에 23. 구체에 19 또는 구체에 20의 일부 추가의 구체에에서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 상이한 에피토프에 특이적으로 결합한다.
- [0742] 구체에 24. 구체에 8, 13, 15, 16, 및 19-23 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체에에서, 항-BCMA는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0743] (1) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0744] (2) 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0745] (3) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0746] (4) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0747] (5) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0748] (6) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0749] (7) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0750] (8) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0751] (9) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0752] (10) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0753] (11) 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.

- [0754] 구체예 25. 구체예 24의 일부 추가의 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 78-88로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.
- [0755] 구체예 26. 구체예 9, 14, 15, 및 19-23 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 다음 중에서 한 가지를 포함한다:
- [0756] (1) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0757] (2) 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0758] (3) 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0759] (4) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0760] (5) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0761] (6) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0762] (7) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0763] (8) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0764] (9) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0765] (10) 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0766] (11) 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0767] (12) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0768] 구체예 27. 구체예 26의 일부 추가의 구체예에서, 항-CD38 sdAb는 서열 번호: 89-100으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.
- [0769] 구체예 28. 구체예 10 및 16-23 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.
- [0770] 구체예 29. 구체예 28의 일부 추가의 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.
- [0771] 구체예 30. 구체예 11, 17 및 19-23 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함한다.
- [0772] 구체예 31. 구체예 30의 일부 추가의 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.
- [0773] 구체예 32. 구체예 1-31 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및/또는 두 번째 sdAb는

낙타, 키메라, 인간, 또는 인간화이다.

- [0774] 구체예 33. 구체예 1-32 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 펩티드 결합을 통해 서로에 직접적으로 융합된다.
- [0775] 구체예 34. 구체예 1-32 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 첫 번째 sdAb 및 두 번째 sdAb는 펩티드 링커를 통해 서로에 융합된다.
- [0776] 구체예 35. 구체예 34의 일부 추가의 구체예에서, 펩티드 링커는 약 50개 아미노산 길이 이내이다.
- [0777] 구체예 36. 구체예 35의 일부 추가의 구체예에서, 펩티드 링커는 서열 번호: 144-151에서 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0778] 구체예 37. 일부 구체예에서, 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항-CD19 단일 도메인 항체 (sdAb)가 제공된다.
- [0779] 구체예 38. 구체예 37의 일부 추가의 구체예에서, 항-CD19 sdAb는 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 VHH 도메인을 포함한다.
- [0780] 구체예 39. 일부 구체예에서, (a) 구체예 37 또는 구체예 38의 항-CD19 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체가 제공된다.
- [0781] 구체예 40. 일부 구체예에서, 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 항-CD20 단일 도메인 항체 (sdAb)가 제공된다.
- [0782] 구체예 41. 구체예 40의 일부 추가의 구체예에서, 항-CD20 sdAb는 서열 번호: 77의 아미노산 서열을 포함하는 VHH 도메인을 포함한다.
- [0783] 구체예 42. 일부 구체예에서, (a) 구체예 40 또는 구체예 41의 항-CD20 sdAb를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체가 제공된다.
- [0784] 구체예 43. 일부 구체예에서, 다음 중에서 한 가지를 포함하는 항-BCMA 단일-도메인 항체 (sdAb)가 제공된다:
- [0785] (1) 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0786] (2) 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0787] (3) 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0788] (4) 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0789] (5) 서열 번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0790] (6) 서열 번호: 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0791] (7) 서열 번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0792] (8) 서열 번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0793] (9) 서열 번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 37의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0794] (10) 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고

고 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는

- [0795] (11) 서열 번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0796] 구체예 44. 구체예 43의 일부 추가의 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 78-88로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.
- [0797] 구체예 45. 일부 구체예에서, (a) 구체예 43 또는 구체예 44의 항-BCMA sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체가 제공된다.
- [0798] 구체예 46. 일부 구체예에서, 다음 중에서 한 가지를 포함하는 CDR을 포함하는 항-CD38 단일-도메인 항체(sdAb)가 제공된다:
- [0799] (1) 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 64의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0800] (2) 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 53의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0801] (3) 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0802] (4) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0803] (5) 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0804] (6) 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0805] (7) 서열 번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0806] (8) 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0807] (9) 서열 번호: 48의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0808] (10) 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 61의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3;
- [0809] (11) 서열 번호: 50의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 62의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3; 또는
- [0810] (12) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1; 서열 번호: 63의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2; 그리고 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3.
- [0811] 구체예 47. 구체예 46의 일부 추가의 구체예에서, 항-BCMA sdAb는 서열 번호: 89-100으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 V_HH 도메인을 포함한다.
- [0812] 구체예 48. 일부 구체예에서, (a) 구체예 46 또는 구체예 47의 항-CD38 sdAb를 포함하는 세포외 항원 결합 도메인; (b) 막경유 도메인; 및 (c) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체가 제공된다.
- [0813] 구체예 49. 구체예 1-36, 39, 42, 45, 및 48 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 구성된 군에서 선택되는 분자로부터 유래된다.
- [0814] 구체예 50. 구체예 49의 일부 추가의 구체예에서, 막경유 도메인은 CD8 또는 CD28로부터 유래된다.
- [0815] 구체예 51. 구체예 50의 일부 추가의 구체예에서, 막경유 도메인은 서열 번호: 132 또는 서열 번호: 133의 아미

노산 서열을 포함한다.

- [0816] 구체예 52. 구체예 1-36, 39, 42, 45, 및 48-51 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 작동체 세포의 일차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0817] 구체예 53. 구체예 52의 일부 추가의 구체예에서, 일차 세포내 신호전달 도메인은 CD3 ζ 으로부터 유래된다.
- [0818] 구체예 54. 구체예 53의 일부 추가의 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 서열 번호: 140 또는 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0819] 구체예 55. 구체예 1-36, 39, 42, 45, 및 48-54 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 동시자극성 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0820] 구체예 56. 구체예 55의 일부 추가의 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83의 리간드 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 동시자극성 분자로부터 유래된다.
- [0821] 구체예 57. 구체예 56의 일부 추가의 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 CD28의 세포질 도메인 및/또는 CD137의 세포질 도메인을 포함한다.
- [0822] 구체예 58. 구체예 57의 일부 추가의 구체예에서, 동시자극성 신호전달 도메인은 서열 번호: 136 및/또는 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0823] 구체예 59. 구체예 1-36, 39, 42, 45, 및 48-58 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, CAR은 세포외 항원 결합 도메인의 C 말단 및 막경유 도메인의 N 말단 사이에 위치한 힌지 도메인을 더욱 포함한다.
- [0824] 구체예 60. 구체예 59의 일부 추가의 구체예에서, 힌지 도메인은 CD8 α 로부터 유래된다.
- [0825] 구체예 61. 구체예 60의 일부 추가의 구체예에서, 힌지 도메인은 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0826] 구체예 62. 구체예 1-36, 39, 42, 45, 및 48-61 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, CAR은 폴리펩티드의 N 말단에서 위치한 신호 펩티드를 더욱 포함한다.
- [0827] 구체예 63. 구체예 62의 일부 추가의 구체예에서, 신호 펩티드는 CD8 α , GM-CSF 수용체 α 및 IgG1 중쇄로 구성된 군에서 선택되는 분자로부터 유래된다.
- [0828] 구체예 64. 구체예 63의 일부 추가의 구체예에서, 신호 펩티드는 CD8 α 로부터 유래된다.
- [0829] 구체예 65. 구체예 64의 일부 추가의 구체예에서, 신호 펩티드는 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0830] 구체예 66. 일부 구체예에서, 서열 번호: 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 및 265-270으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 항원 수용체가 제공된다.
- [0831] 구체예 67. 일부 구체예에서, 서열 번호: 76-100, 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 및 265-270으로 구성된 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.
- [0832] 구체예 68. 일부 구체예에서, 구체예 1-36, 39, 42, 45, 및 48-66 중에서 한 가지의 CAR을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산이 제공된다.
- [0833] 구체예 69. 구체예 68의 일부 추가의 구체예에서, 핵산 서열은 서열 번호: 175-197, 202-205, 217-227, 250-251, 261-264 및 271-276으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0834] 구체예 7. 구체예 68 또는 구체예 69의 일부 추가의 구체예에서, 단리된 핵산은 두 번째 CAR을 인코딩하는 두 번째 핵산 서열을 더욱 포함하고, 여기서 CAR을 인코딩하는 핵산 서열은 자가-개열 펩티드를 인코딩하는 세 번째 핵산 서열을 통해 두 번째 핵산 서열에 작동가능하게 연결된다.
- [0835] 구체예 71. 구체예 70의 일부 추가의 구체예에서, 자가-개열 펩티드는 T2A, P2A 및 F2A로 구성된 군에서 선택된다.
- [0836] 구체예 72. 구체예 71의 일부 추가의 구체예에서, 세 번째 핵산 서열은 서열 번호: 255이다.
- [0837] 구체예 73. 구체예 68-72 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 단리된 핵산은 RNA 분자이다.
- [0838] 구체예 74. 일부 구체예에서, 구체예 68-72 중에서 한 가지의 단리된 핵산을 포함하는 벡터가 제공된다.

- [0839] 구체예 75. 구체예 74의 일부 추가의 구체예에서, 백터는 발현 백터이다.
- [0840] 구체예 76. 구체예 74 또는 구체예 75의 일부 추가의 구체예에서, 백터는 바이러스 백터이다.
- [0841] 구체예 77. 구체예 76의 일부 추가의 구체예에서, 백터는 렌티바이러스 백터이다.
- [0842] 구체예 78. 일부 구체예에서, 구체예 1-36, 39, 42, 45, 및 48-66 중에서 한 가지의 CAR, 구체예 68-73 중에서 한 가지의 단리된 핵산, 또는 구체예 74-77 중에서 한 가지의 백터를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포가 제공된다.
- [0843] 구체예 79. 구체예 78의 일부 추가의 구체예에서, 면역 작동체 세포는 T 세포, NK 세포, 말초혈 단핵 세포(PBMC), 조혈 줄기 세포, 다능성 줄기 세포, 또는 배아 줄기 세포이다.
- [0844] 구체예 80. 구체예 79의 일부 추가의 구체예에서, 면역 작동체 세포는 T 세포이다.
- [0845] 구체예 81. 일부 구체예에서, 구체예 78-80 중에서 한 가지의 가공된 면역 작동체 세포 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물이 제공된다.
- [0846] 구체예 82. 일부 구체예에서, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 구체예 81의 제약학적 조성물의 효과량을 개체에 투여하는 것을 포함한다.
- [0847] 구체예 83. 구체예 82의 일부 추가의 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 자가이다.
- [0848] 구체예 84. 구체예 82의 일부 추가의 구체예에서, 가공된 면역 작동체 세포는 동종이계이다.
- [0849] 구체예 85. 구체예 82-84 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 암은 액상암이다.
- [0850] 구체예 86. 구체예 85의 일부 추가의 구체예에서, 암은 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병, 또는 만성 림프성 백혈병이다.
- [0851] 구체예 87. 구체예 82-84 중에서 한 가지의 일부 추가의 구체예에서, 암은 고형암이다.
- [0852] 구체예 88. 일부 구체예에서, 구체예 37 또는 구체예 38의 항-CD19 sdAb 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물이 제공된다.
- [0853] 구체예 89. 일부 구체예에서, 구체예 40 또는 구체예 41의 항-CD20 sdAb 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물이 제공된다.
- [0854] 구체예 90. 일부 구체예에서, 구체예 43 또는 구체예 44의 항-BCMA sdAb 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물이 제공된다.
- [0855] 구체예 91. 일부 구체예에서, 구체예 46 또는 구체예 47의 항-CD38 sdAb 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물이 제공된다.
- [0856] 구체예 92. 일부 구체예에서, 개체에서 질환을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 구체예 88-91 중에서 한 가지의 제약학적 조성물의 효과량을 개체에 투여하는 것을 포함한다.
- [0857] 구체예 93. 구체예 92의 일부 추가의 구체예에서, 질환은 암이다.

발명의 효과

- [0858] 본 출원은 단일-도메인 항체, 그리고 단일-도메인 항체를 각각 포함하는 하나 또는 그 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체를 제공한다. 본 발명은 또한 이들 키메라 항원 수용체를 포함하는 가공된 면역 작동체 세포 (가령, T 세포)를 제공한다. 또한, 본 발명은 암을 치료하는 제약학적 조성물, 키트 및 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0859] 도면 1a는 V_H -기초된 CAR 및 전통적인 scFv-기초된 CAR의 구조를 비교한다. 왼쪽에 계통도 구조는 V_H 도메인을 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 갖는 예시적인 단일특이적 일가 CAR을 보여준다. 오른쪽에 계통도 구조는 scFv 도메인을 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 갖는 예시적인 단일특이적 일가 CAR을 보여준다.
- 도면 1b는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 V_H -기초된 CAR 및 2개의 항원 결합 부위를 갖는 전통적인 scFv-기초된

CAR의 구조를 비교한다. 왼쪽에 계통도 구조는 2개의 V_{HH} 도메인을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 갖는 예시적인 CAR이다. 2개의 V_{HH} 도메인은 동일하거나 상이할 수 있다. 오른쪽에 계통도 구조는 2개의 scFv 도메인을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 갖는 예시적인 CAR을 보여준다. 2개의 scFv 도메인은 동일하거나 상이할 수 있다.

도면 1c는 예시적인 이가 및 이중특이적 V_{HH} -기초된 CARs의 계통도 구조를 보여준다. 왼쪽 위 패널에서 계통도 구조는 2개의 동일한 V_{HH} 도메인을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 갖는 예시적인 단일특이적, 이가 CAR을 보여주는데, 이들은 각각, 항원 A의 에피토프 1에 특이적으로 결합한다. 오른쪽 위 패널에서 계통도 구조는 항원 A의 에피토프 1에 특이적으로 결합하는 첫 번째 V_{HH} 도메인 및 항원 A의 에피토프 2에 특이적으로 결합하는 두 번째 V_{HH} 도메인을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 갖는 예시적인 단일특이적, 이가 CAR을 보여준다. 항원 A의 에피토프 1 및 에피토프 2는 그들의 구조 및/또는 서열에서 상이할 수 있다. 왼쪽 아래 패널에서 계통도 구조는 항원 A에 특이적으로 결합하는 첫 번째 V_{HH} 도메인 및 항원 B에 특이적으로 결합하는 두 번째 V_{HH} 도메인을 포함하는 세포외 항원 결합 도메인을 갖는 예시적인 이중특이적 CAR을 보여준다. 항원 A 및 항원 B는 상이한 항원이다.

도면 1d는 3개 또는 그 이상의 V_{HH} 도메인을 갖는 예시적인 V_{HH} -기초된 CARs의 계통도 구조를 보여준다. 이들 CARs는 직접적으로 또는 펩티드 링커를 통해 서로 융합된 복수의 V_{HH} 도메인을 가질 수 있다. 이들 V_{HH} 도메인은 동일하거나 상이할 수 있다. 상이한 V_{HH} 도메인은 동일한 항원 상에서 상이한 에피토프에 또는 상이한 항원에 특이적으로 결합할 수 있다.

도면 1e는 2개의 상이한 V_{HH} -기초된 CARs를 공동발현하는 예시적인 가공된 면역 작동체 세포를 보여준다. 왼쪽 패널에서 예시적인 가공된 면역 작동체 세포는 2개의 상이한 단일특이적, 일가 CARs를 공동발현한다. 중앙 패널에서 예시적인 가공된 면역 작동체 세포는 단일특이적, 일가 CAR 및 이중특이적 또는 이가 CAR을 공동발현한다. 오른쪽 패널에서 예시적인 가공된 면역 작동체 세포는 2개의 상이한 이중특이적 또는 이가 CARs를 공동발현한다. 이들 CARs는 상이한 항원을 인식할 수 있다.

도면 2a는 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc에 대한 다양한 항-BCMA (즉, 항-CD269) 또는 항-CD38 단일-도메인 항체를 포함하는 예시적인 단일특이적 CARs를 발현하는 T 세포의 시험관내 세포독성 검정의 결과를 보여준다.

도면 2b는 교모세포종 세포주 U87MG.Luc에 대한 다양한 항-BCMA (즉, 항-CD269) 또는 항-CD38 단일-도메인 항체를 포함하는 예시적인 단일특이적 CARs를 발현하는 T 세포의 시험관내 세포독성 검정의 결과를 보여준다.

도면 3a는 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc에 대한 예시적인 이중특이적 CARs를 발현하는 T 세포의 시험관내 세포독성 검정의 결과를 보여준다.

도면 3b는 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc에 대한 예시적인 이중특이적 CARs를 발현하는 T 세포의 시험관내 세포독성 검정의 결과를 보여준다.

도면 4는 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc에 대한 예시적인 이중특이적 CARs를 발현하는 T 세포의 시험관내 세포독성 검정의 결과를 보여준다.

도면 5는 CD19 및 CD20을 표적으로 하는 예시적인 이중특이적 CAR, CD19를 표적으로 하는 예시적인 단일특이적 CAR, 그리고 CD20을 표적으로 하는 예시적인 단일특이적 CAR의 구조체를 보여준다.

도면 6은 다양한 T 세포에 대한 시험관내 세포독성 검정의 결과를 보여준다. 왼쪽 위 패널은 형질도입되지 않은 대조 T 세포의 결과를 보여준다. 오른쪽 위 패널은 예시적인 CD19 CAR을 발현하는 T 세포의 결과를 보여준다. 왼쪽 아래 패널은 예시적인 CD20 CAR을 발현하는 T 세포의 결과를 보여준다. 오른쪽 아래 패널은 예시적인 이중특이적 CD19 x CD20 CAR을 발현하는 T 세포의 결과를 보여준다.

도면 7은 CD19 및 CD20을 표적으로 하는 예시적인 이중특이적 CAR을 발현하는 T 세포의 생체내 항종양 검정의 결과를 보여준다.

도면 8a는 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc에 대한 예시적인 단일특이적, 이가 CARs를 발현하는 T 세포의 시험관내 세포독성 검정의 결과를 보여준다. 이들 CARs는 각각, 2개의 상이한 항-BCMA (즉, 항-CD269) sdAbs를 포

함하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함한다.

도면 8b는 교모세포종 세포주 U87MG.Luc에 대한 예시적인 단일특이적, 이가 CARs를 발현하는 T 세포의 시험관내 세포독성 검정의 결과를 보여준다. 이들 CARs는 각각, 2개의 상이한 항-BCMA (즉, 항-CD269) sdAbs를 포함하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0860] 본원에서 설명된 실시예는 아래의 실험이 수행된 모든 또는 유일한 실험이라는 것을 나타내는 것으로 의도되지 않는다. 이용된 숫자 (가령, 양, 온도 등)에 대하여 정확도를 담보하기 위한 노력이 이루어졌지만, 일부 실험 오차와 편차가 고려되어야 한다. 달리 지시되지 않으면, 분율은 중량에 의한 분율이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도 (°C)이고, 그리고 압력은 대기압이거나 또는 이에 가깝다.

[0862] 실시예 1: 단일-도메인 항체의 제조

[0863] 특정된 항원에 높은 결합 친화성을 갖는 단일-도메인 항체를 개발하기 위해, 라마가 면역화되었고, 그리고 파지 전사 라이브러리가 V_HH 리드를 확인하기 위해 작제되었다. 상이한 클론이 무작위로 선발되었고, 그리고 항원 결합에서 주요한 역할을 수행할 수 있는 영역인 중쇄 상보성 결정 영역 3 (CDR3)에 따라 분류되었다.

[0864] 단일-도메인 항체를 획득하기 위해, 라마는 개별 면역원으로 규칙적으로 면역화되었는데, 이들은 C 말단 Fc 태그를 갖는 재조합 인간 BCMA 단백질 (ACRO Biosystems, 카탈로그 번호:BC7-H5254), C 말단 His 태그를 갖는 재조합 인간 CD38 단백질 (ACRO Biosystems, 카탈로그 번호: CD8-H5224), C 말단 Fc 태그를 갖는 재조합 인간 CD19 단백질 (ACRO Biosystems, 카탈로그 번호:CD9-H5229) 및 C 말단 Fc 태그를 갖는 재조합 인간 CD20 단백질 (ACRO Biosystems, 카탈로그 번호: CD0-H526a)을 포함할 수 있다.

[0865] 항-BCMA 단일-도메인 항체를 산출하는 과정은 다양한 항원에 대한 단일-도메인 항체를 산출하기 위한 실례로서 아래에 설명된다. 항인간 CD38, 항인간-CD19 및 항-CD20 단일-도메인 항체의 산출은 아래에 설명된 바와 같은 유사한 과정으로 수행되었다. 단일-도메인 항체를 제조하기 위한 다른 프로토콜이 설명되었다. 가령, Els Pardon et al, *Nature Protocol*, 2014; 9(3): 674를 참조한다.

[0866] 1. 동물 면역화 및 면역 반응 검정

[0867] 1.1 동물 면역화

[0868] 재조합 항원 단백질을 포함하는 각 면역원은 어쥬번트 또는 PBS와 혼합되고 라마에 주사되었다. 이들 동물은 매번 약 1-주 내지 2-주 간격에서, 전형적으로 200 µg 면역원 및 CFA (완전한 프로인드 어쥬번트)로, 7 회 동안 서비스 공급업체 (Cedarline)에 의해 면역화되었다. 말초혈 표본은 면역화전 시기에서 및 5번째와 7번째 면역화 후 수집되었다. 복수 라운드의 면역화 후, 표적 항원에 대하여 라마의 면역 반응이 항원 특이적 단일-도메인 항체의 역가를 확증하기 위해 평가되었다. 림프구는 약 100 ml의 말초혈로부터 구배 원심분리에 의해 분리되었다. 이들 세포는 RNALATERTM으로 보존되고 -80°C에서 보관되었다. 혈청은 항응고화된 혈액 표본의 원심분리에 의해 획득되고 -80°C에서 보관되었다.

[0869] 1.2 IgG 분별

[0870] IgG-하위부류 분별은 GenScript의 표준 운영 절차에 따라 실행되었다. IgG 하위부류는 단백질 G 및 단백질 A 수지를 이용하여 종말 출혈 혈청으로부터 분획되었다. 1 ml 혈청 표본이 1 ml HITRAP[®] 단백질 G HP 칼럼 위에 적하되었고, 그리고 상기 칼럼은 10 ml 인산염 완충액 (20 mM, pH 7.0)으로 세척되었다. IgG3 (MW 100,000 Da) 분획물은 0.15 M NaCl, 0.58% 아세트산 (pH 3.5)으로 용리되었고, 그리고 용출물은 pH 7.4까지 1 M Tris-HCl (pH 9.0)로 중화되었다. 차후에, IgG1 (MW 170,000 Da) 분획물은 0.1 M 글리신-HCl (pH 2.7)로 용리되었고, 그리고 용출물은 pH 7.4까지 1 M Tris-HCl (pH 8.5)로 중화되었다. HITRAP[®] 단백질 G HP 칼럼의 관류는 이후, 1 ml HITRAP[®] 단백질 A HP 칼럼 위에 부하되었고, 그리고 상기 칼럼은 20 ml 인산염 완충액 (20 mM, pH 7.0)으로 세척되었다. IgG2 (MW 100,000 Da) 분획물은 0.15 M NaCl, 0.58% 아세트산 (pH 4.5)으로 용리되었고, 그리고 용출물은 pH 7.4까지 1 M Tris-HCl (pH 9.0)로 중화되었다. 정제된 IgG1, IgG2 및 IgG3 항체의 농도는 OD280에 의해 결정되었고, 그리고 각각의 순도는 환원 및 비환원 SDS-PAGE 분석 둘 모두에 의해 사정되었다.

[0871] **1.3 면역 반응 검정**

[0872] 라마의 면역 반응은 ELISA에 의해 평가되었는데, 여기서 혈청 표본 및 정제된 IgGs가 고정된 면역원에 결합에 대해 검정되었다. 면역화전, 5번째 면역화 후 및 종말 출혈에서 수집된 혈청이 평가되었다. 항원 (즉, 재조합 인간 항원 단백질)은 코팅 완충액에서 4 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석되었다. 마이크로역가 평판은 4°C에서 하룻밤 동안, 희석된 항원으로 코팅되었다. 평판은 이후, 세척 완충액으로 3 회 세척되고, 그 이후에 실온에서 2 시간 동안 차단되었다. 평판은 차후에, 세척 완충액으로 4 회 세척되었다. 일련의 희석된 혈청 또는 IgGs가 평판에 첨가되고 실온에서 1.5 시간 동안 배양되었다. 평판은 이후, 세척 완충액으로 4 회 세척되었다. HRP-접합된 항-라마 IgG 이차 항체가 평판에 첨가되고 실온에서 1 시간 동안 배양되었다. 세척한 후, TMB 기질이 각 웰에 첨가되고, 그리고 1 M HCl로 정지시키기 전에 10 분 동안 배양되었다. 결합을 정량하기 위해, 450 nm에서 흡광도가 MK3 분광계를 이용하여 각 웰에 대해 측정되었다.

[0873] **2. V_{H} 파지 전사 라이브러리 작제**

[0874] **2.1 RNA 추출**

[0875] 전체 RNA는 제조업체의 프로토콜에 따라서 TRIZOL[®] 시약을 이용하여 단리된 림프구 (1.1.1로부터)로부터 추출되었다. 전체 RNA의 양 및 품질은 겔 전기이동에 의해 사정되고, 그리고 OD260/280에서 흡광도를 측정함으로써 정량되었다.

[0876] **2.2 RT-PCR 및 V_{H} 증폭**

[0877] 전체 RNA는 제조업체의 프로토콜에 따라서, PRIMESCRIPT[™] 1st 가닥 cDNA 합성 키트를 이용하여 oligo(dT)₂₀ 프라이머로 cDNA로 역전사되었다. 6개의 전방 및 2개의 후방 특이적 축증성 프라이머가 V_{H} 단편을 증폭하기 위해 설계되었는데, 이들은 2개의 BglI 제한 부위가 도입되었다. V_{H} 단편은 아래에 설명된 바와 같은 GenScript의 표준 운영 절차 (SOP)에 따라 증폭되었다.

[0878] 중쇄 면역글로불린의 가변 영역 (다시 말하면, V_{H} s)은 2-단계 중합효소 연쇄 반응 (PCR)을 이용하여 증폭되었다. 첫 번째 PCR에서, 100 ng의 cDNA 주형은 프라이머 CALL001 (서열 번호: 229) 및 CALL002 (서열 번호: 230)와 혼합되었다. 첫 번째 PCR 반응으로부터 DNA 산물은 아가로스 겔 전기이동에 의해 분석되었다. 겔 정제 후, 첫 번째 PCR의 DNA 산물은 두 번째 PCR에서 주형으로서 이용되었다. 두 번째 PCR은 프라이머 BACK-1 (서열 번호: 231), BACK-2 (서열 번호: 232) 및 PMCF (서열 번호: 233)로 수행되었다. V_{H} PCR 단편을 내포하는 증폭된 두 번째 PCR 산물은 겔 정제되고 효소 소화되고, 그리고 이후, 파지미드 플라스미드 내로 삽입되었다. V_{H} 유전자 단편을 갖는 재조합 플라스미드는 파지 전사 V_{H} 면역 라이브러리를 산출하기 위해 대장균 (*E. coli*) 세포 내로 전자 전달되었다.

[0879] PCR 반응을 위한 절차는 7 분 동안 94°C에서 초기 변성 단계, 그 이후에 1 분 동안 94°C, 1 분 동안 55°C 및 1 분 동안 72°C의 30 주기; 그리고 그 이후에, 7 분 동안 72°C에서 최종 신장 단계를 갖는다.

[0880] **2.3 파지 라이브러리 작제**

[0881] V_{H} PCR 산물은 상이한 프라이머 쌍을 이용한 증폭에 의해 획득되었다. PCR 산물은 이후, BglI로 소화되고 겔 정제되었다. 겔 정제된 단편은 GenScript의 인하우스 파지미드 벡터 내로 삽입되었다. 결합 및 형질전환 조건을 최적화하기 위한 파일럿 라이브러리가 작제되었다. 이들 최적화된 결합 및 형질전환 조건은 파지미드 라이브러리를 개발하는데 이용되었다. 형질전환된 세포 중에서 작은 부분은 희석되고 100 $\mu\text{g/mL}$ 암피실린으로 보충된 2xYT 평판 상에 스트리킹되었다. 이들 집락은 라이브러리 크기를 계산하기 위해 계수되었다. 양성 클론은 무작위로 선발되고, 그리고 라이브러리의 품질을 사정하기 위해 염기서열결정되었다. 나머지 형질전환된 세포는 100 $\mu\text{g/mL}$ 암피실린 및 2% 글루코오스로 보충된 YT 평판 위에 스트리킹되었다. 집락의 론은 평판으로부터 긁어내졌다. 이들 세포 중에서 작은 분취량이 라이브러리 플라스미드 단리에 이용되었다. 나머지는 글리세롤로 보충되고 -80°C에서 스톱으로서 보관되었다.

[0882] **3. 파지 전사 패닝**

[0883] **3.1 바이오-패닝**

[0884] 작제된 $V_{\mu}H$ 파지 라이브러리는 각각, GenScript에 의해 개발된 표준 절차를 이용하여, 재조합 인간 BCMA 단백질 및 인간 BCMA를 발현하는 CHO 세포 (다시 말하면, Legend Biotec에 의해 인하우스 제조된 CHO-BCMA 세포)에 대해 패닝되었다. 라이브러리 스톡은 로그 기까지 성장되었고, 그리고 이후, 라이브러리는 M13K07 조력 파지로 구조되고 25℃에서 진탕기에서 하룻밤 동안 증폭되었다. 상기 파지는 이후, PEG/NaCl로 침전되고, PBS에서 재현탁되고, -80℃에서 보관되었다. 고체상 패닝의 경우에, 마이크로평판 웰은 4℃에서 하룻밤 동안 PBS에서 재조합 인간 BCMA 단백질로 코팅되었다. 액체상 패닝의 경우, CHO-BCMA 세포는 실온에서 1 시간 동안 차단 완충액으로 차단되었다. 코팅 또는 차단 단계 동안, 파지 입자는 마이크로평판 웰에서 차단 완충액 및 Fc 대조 단백질과 함께 전배양되었다. 전배양 후, 파지 입자가 각각, BCMA 단백질 또는 CHO-BCMA 용액으로 코팅된 웰에 첨가되고 1 시간 동안 배양되었다. 배양 후, 결합되지 않은 및 비특이적으로 결합된 파지는 2회 추가 PBS 세척으로 보충된, 6회 동안 PBST로 웰 또는 CHO-BCMA 세포를 행군으로써 씻겨 내려갔다. 결합된 파지 입자는 100 mM 트리에틸아민 (TEA)에 의해 용리되었고, 그리고 용출물은 1 M Tris-HCl (pH 7.4)에 의해 중화되었다. 용출물 중에서 절반은 이후, 출력 적정을 위해, 지수적으로 성장하는 대장균 (*E. coli*) TG1 세포를 감염시키는데 이용되었다 ($OD_{600} = 0.4 \sim 0.6$).

[0885] 3.2 파지 ELISA

[0886] 표적 항원에 특정한 클론을 확인하기 위해 파지 ELISA가 수행되었다. 개별 출력 파지 클론은 96-깊은-웰 평판에서 성장되고, 그리고 M13K07 조력 파지에 의해 하룻밤 동안 구조되었다. 항원 단백질에 결합하는 클론을 확인하기 위해, 96-웰 ELISA 마이크로로가 평판이 4℃에서 하룻밤 동안 코팅 완충액에서 각각, 재조합 인간 BCMA 단백질 및 Fc 대조 단백질로 코팅되었고, 그리고 평판은 이후, 차단 완충액으로 차단되었다. 차단한 후, 하룻밤 세포 배양액으로부터 웰마다 거의 50 μ l의 파지 상층액이 4℃에서 1.5-시간 배양 동안 평판에 첨가되었다. 이들 평판은 4회 세척되고, 그리고 HRP-접합된 항-M13 단일클론 항체가 4℃에서 45-분 배양 동안 평판에 첨가되었다. 이들 평판은 다시 한 번, 5회 세척되었고, 그리고 기질 용액이 전개를 위해 웰에 첨가되었다. 450 nm에서 흡수가 각 웰에 대해 측정되었다.

[0887] CHO-BCMA 세포에 결합하는 클론을 확인하기 위해, CHO-BCMA 세포는 실온에서 1 시간 동안 차단 완충액으로 차단되었다. 차단한 후, 하룻밤 세포 배양액으로부터 웰마다 거의 20 μ l의 파지 상층액이 실온에서 1-시간 배양 동안 세포 용액에 첨가되었다. 이들 세포가 4 회 세척된 후, HRP-접합된 항-M13 단일클론 항체가 실온에서 30-분 배양 동안 첨가되었다. 이들 세포는 5회 세척되었고, 그리고 기질 용액이 이후, 전개를 위해 첨가되었다. 흡수는 450 nm에서 측정되었다.

[0888] 패닝 후, 파지 ELISA 양성 단일 클론이 무작위로 선별되었고, 그리고 DNA가 플라스미드 추출 키트를 이용하여 출력 파지로부터 준비되었다. 플라스미드 내에 삽입물은 염기서열화되었다. 각 표적 항원에 대해 하나 또는 그 이상의 $V_{\mu}H$ 서열이 획득되었다, 가령, 표 2를 참조한다.

[0890] 실시예 2: 단일특이적 $V_{\mu}H$ 키메라 항원 수용체의 제조

[0891] N 말단으로부터 C 말단으로 CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28 세포질 도메인, CD137 세포질 도메인 및 CD3 ζ 세포질 도메인을 포함하는 CAR 중추 폴리펩티드를 인코딩하는 CAR 중추 서열은 화학적으로 합성되고, 그리고 미리 변형된 렌티바이러스 벡터 하류 내로 클로닝되고 구조성 hEF1 α 프로모터에 작동가능하게 연결되었다. 결과의 CAR 중추 벡터는 "PLLV-hEF1 α -8281373"으로 명명되었다. 벡터 내에 멀티-클로닝 부위 (MCS)는 PLLV-hEF1 α -8281373 벡터, 상류 내로 $V_{\mu}H$ 단편의 N 말단에 융합된 CD8 α 신호 펩티드를 인코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결되고 CAR 중추 서열에 작동가능하게 연결된 코자크 서열을 포함하는 핵산 서열 (서열 번호: 126)의 삽입을 허용하였다.

[0892] PLLV-hEF1 α -8281373 중추를 이용하여 단일 $V_{\mu}H$ 도메인을 갖는 단일특이적 CAR을 작제하기 위해, $V_{\mu}H$ 도메인을 인코딩하는 핵산 서열이 CD8 α 신호 펩티드를 인코딩하는 핵산 서열의 3'에 작동가능하게 연결되었다. 융합 핵산 서열은 화학적으로 합성되고, 그리고 당해 분야에서 공지된 분자 클로닝 기술에 의해 EcoRI (서열 번호: 234: 5'-GAATTC-3') 및 SpeI (서열 번호: 235: 5'-ACTAGT-3') 제한 부위를 통해 PLLV-hEF1 α -8281373 CAR 중추 내로 클로닝되었다. 표 4는 예시적인 단일특이적, 일가 항-BCMA 및 항-CD38 CARs를 발현하도록 작제된 벡터를 열거한다.

- [0893] 단일특이적 CAR 구조체 (가령, 항-BCMA 또는 항-CD38)를 설계할 때, 추가 서열, 예를 들면, 두 번째 V_H 를 인코딩하는 뉴클레오타이드를 더욱 용이하게 삽입하기 위해, HpaI (서열 번호: 236: 5'-GTTAAC-3'), MluI (서열 번호: 237: 5'-ACGCGT-3'), NsiI (서열 번호: 238: 5'-ATGCAT-3') 부위를 비롯한 제한 부위가 CD8 α 신호 펩티드 핵산 서열 및 V_H 핵산 서열 사이에 포함되었다.
- [0894] pCMV- Δ R-8.74 및 pMD2.G (Addgene#12259)를 포함하는 렌티바이러스 포장 플라스미드 혼합물은 미리 최적화된 비율에서 폴리에테르이미드 (PEI)를 포함하는 V_H 단편을 갖는 벡터 PLLV-hEF1 α -8281373 (표 4)과 예혼합되고, 이후 적절하게 혼합되고 실온에서 5 분 동안 배양되었다. 형질감염 혼합물은 이후, HEK293 세포에 방울방울 첨가되고 부드럽게 혼합되었다. 그 후에, 세포는 37°C 및 5% CO₂ 세포 인큐베이터에서 하룻밤 동안 배양되었다. 상층액은 4°C, 500 g에서 10 분 동안 원심분리 후 수집되었다.
- [0895] 바이러스-내포 상층액은 0.45 μ m PES 필터를 통해 여과되고, 그 이후에 렌티바이러스 농도에 대해 초원심분리되었다. 초원심분리 후, 상층액은 조심스럽게 폐기되었고, 그리고 바이러스 펠렛이 미리 냉각된 DPBS로 신중하게 행균되었다. 바이러스는 적절하게 분취되고, 이후 -80°C에서 즉시 보관되었다. 바이러스 역가는 GenScript에 의해 개발된 HTRF 키트에 근거하여 p24에 의해 결정되었다.
- [0896] **PBMC 준비**
- [0897] 백혈구는 건강한 공여자로부터 성분채집술에 의해 수집되었고, 그리고 세포 농도는 R10 배지에서 5×10^6 세포/ml로 조정되었다. 백혈구는 이후, 1:1 (v/v) 비율에서 0.9% NaCl 용액과 혼합되었다. 3 ml 림프프랩 배지가 15 ml 원심분리기 튜브에 첨가되었고, 그리고 6 ml의 희석된 림프구 혼합물이 림프프랩 배지의 위에 천천히 층을 이루었다. 림프구 혼합물은 20°C에서 제동 없이 30 분 동안 800 g에서 원심분리되었다. 림프구 백혈구원층이 이후, 200 μ l 피펫으로 수집되었다. 수확된 분획물은 용액의 밀도를 감소시키기 위해, 0.9% NaCl 또는 R10으로 최소 6 배 희석되었다. 수확된 분획물은 이후, 20°C에서 10 분 동안 250g에서 원심분리되었다. 상층액은 완전하게 흡인되었고, 그리고 10 ml의 R10이 세포 펠렛을 재현탁하기 위해 세포 펠렛에 첨가되었다. 혼합물은 20°C에서 10 분 동안 250 g에서 더욱 원심분리되었다. 상층액은 다시 한 번 흡인되었다. 100IU/ml IL-2와 함께 2 ml의 37°C 미리 가온된 R10이 세포 펠렛에 첨가되었고, 그리고 세포 펠렛은 부드럽게 재현탁되었다. 세포 수는 트리판 블루 염색에 따라서 결정되었고, 그리고 이러한 PBMC 표본은 추후 실험에 대해 준비되었다.
- [0898] **T 세포 정제**
- [0899] 인간 T 세포는 아래에 설명된 바와 같은 제조업체의 프로토콜에 따라서, Miltenyi Pan T 세포 분리 키트 (Cat#130-096-535)를 이용하여 PBMCs로부터 정제되었다. 세포 수가 먼저 결정되었고, 그리고 세포 현탁액은 10 분 동안 300 g에서 원심분리되었다. 상층액은 이후, 완전하게 흡인되었고, 그리고 세포 펠렛이 10^7 전체 세포마다 40 μ l 완충액에서 재현탁되었다. 10 μ l의 Pan T 세포 비오틴-항체 콕테일이 10^7 전체 세포마다 첨가되고, 철저히 혼합되고, 냉장고 (2~8°C)에서 약 5 분 동안 배양되었다. 30 μ l의 완충액이 이후, 10^7 세포마다 첨가되었다. 20 μ l의 Pan T 세포 마이크로비드 콕테일이 10^7 세포마다 첨가되었다. 세포 현탁액 혼합물은 충분히 혼합되고 냉장고 (2~8°C)에서 추가 10 분 동안 배양되었다. 자성 분리를 위해 최소 500 μ l가 필요하다. 자성 분리를 위해, LS 칼럼이 적합한 MACS 분리기의 자기장에서 배치되었다. 칼럼은 3 ml의 완충액으로 행균으로써 준비되었다. 세포 현탁액이 이후, 칼럼 위에 적용되었고, 그리고 표지화되지 않은 세포를 내포하는 관류는 수집되었는데, 이것은 농축된 T 세포 분획물을 대표하였다. 추가 T 세포가 칼럼을 3 ml의 완충액으로 세척하고 통과하는 표지화되지 않은 세포를 수집함으로써 수집되었다. 이들 표지화되지 않은 세포는 다시 한 번, 농축된 T 세포를 대표하고, 그리고 이전 단계로부터 관류와 합동되었다. 모아진 농축된 T 세포는 이후, 원심분리되고 R10+100IU/ml IL-2에서 재현탁되었다.
- [0900] 준비된 T 세포는 차후에, 제조업체의 프로토콜에 따라 인간 T 세포 활성화/확대 키트 (Miltenyi#130-091-441)로 48-96 시간 동안 미리 활성화되었는데, 여기서 항-CD3/CD28 MACSiBead 입자는 1:2의 비드-대-세포 비율에서 첨가되었다.
- [0901] 미리 활성화된 T 세포는 1200 g, 32°C에서 1.5 시간 동안 원심분리로, 7 μ g/mL 폴리브렌의 존재에서 렌티바이러스 스톱으로 형질도입되었다. 형질도입된 세포는 이후, 적합한 조건 하에 도입유전자 발현을 위해 세포 배양 인큐베이터로 이전되었다.

[0902] 형질도입후 3 일자 또는 7 일자에, 형질도입된 T 세포는 수확되고, 그리고 20:1의 작동체 (CAR-T) 대 표적 세포 비율에서 20 시간 동안 종양 세포와 공동배양되었다. 표적 세포는 인간 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc 또는 인간 교모세포종 세포주 U87MG.Luc 세포이었는데, 이들 양쪽 세포주는 개뿔벌레 루시페라아제를 발현하도록 인하우스 가공되었다. 종양 세포에 대한 CAR-T의 세포독성을 검정하기 위해, One-glo 발광 루시페라아제 검정 시약 (Promega#E6110)이 제조업체의 프로토콜에 따라 제조되고, 그리고 웰 내에 남아있는 루시페라아제 활성을 검출하기 위해 공동배양된 세포에 첨가되었다. 루시페라아제가 RPMI8226.Luc 또는 U87MG.Luc 세포에서만 발현되기 때문에, 웰 내에 남아있는 루시페라아제 활성은 웰 내에 생존가능한 표적 세포의 숫자와 직접적으로 상관한다. 최대 루시페라아제 활성은 작동체 세포의 부재에서 배양 배지를 표적 세포에 첨가함으로써 획득되었다. 최소 루시페라아제 활성은 세포독성 검정이 시작되는 시점에서 1%의 최종 농도에서 Triton X-100을 첨가함으로써 결정되었다. 특이적 세포독성은 다음 공식에 의해 계산되었다: 특이적 세포독성 % = $100\% \times \frac{(1 - (RLU_{\text{표본}} - RLU_{\text{최소}}))}{(RLU_{\text{최대}} - RLU_{\text{최소}})}$.

[0903] BCMA를 표적으로 하는 단일특이적 CAR 클론 (CD269)은 밀기수 "269"로 시작하여 코딩되었고, 반면 CD38을 표적으로 하는 단일특이적 CAR 클론은 밀기수 "38"로 시작하여 유사하게 코딩되었다. 도면 2a에서 도시된 바와 같이, 선별된 클론은 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc 세포에 대한 상이한 수준의 세포독성을 전시하였는데, 60% 초과와 단일특이적 V_H -기초된 CAR-Ts가 RPMI8226.Luc 세포에 대항하여 >50% 세포독성을 보여주었다. 클론 269A37346, 269A37348, 269A37353, 269A37355, 38A37326, 38A37331, 38A37717 및 38A37719 기초된 CAR-T가 추가 시험을 위해 선택되었다. 특히, 클론 269A37346, 269A37348, 269A37353, 269A37355, 38A37326, 38A37331, 38A37717 기초된 CAR-T는 형질도입되지 않은 대조 T 세포 (UnT)와 비교하여 CAR-T 처리에 의한 RPMI8226.Luc 세포 죽음에서 20%-30%보다 많은 증가로 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc 세포에 대한 강력한 세포독성을 전시하였다. 하지만, 이런 세포독성 증가는 인간 교모세포종 세포주 U87MG.Luc 세포에서는 일어나지 않았다 (도면 2b를 참조한다). UnT 대조와 비교하여 이들 단일특이적 V_H -기초된 CAR-T 세포에 의한 유의미한 세포독성 효과는 U87MG.Luc에서 검출되지 않았다. 상기 관찰 결과는 이들 클론 중에서 일부가 표적 특이적이고 BCMA 또는 CD38 양성 세포에서 강력할지도 모른다는 것을 지시하였다.

[0905] 실시예 3: 예시적인 이중특이적 또는 다가 키메라 항원 수용체의 제조

[0906] 실시예 2에서 설명된 바와 같은 잠재적으로 강력한 클론은 또한, 이중특이적 또는 다가 V_H -기초된 CARs를 산출하기 위한 우호적인 후보일 수 있었다. 2가지 대표적인 V_H 클론 (항-BCMA V_H 클론 269A37346 및 항-CD38 V_H 클론 38A37717)이 다양한 예시적인 CAR 구조체를 작제하기 위해 선택되었다.

[0907] BCMA x CD38 V_H -기초된 CARs는 적합한 펩티드 링커 (가령, Gly-Ser 중합체)를 통해 BCMA 특이적 V_H 및 CD38 특이적 V_H , 그 이후에 CAR 신호 도메인 중추 벡터를 합동함으로써 산출될 수 있다. 예시적인 이중특이적 BCMAxCD38 CAR 구조체 (GSI5001 내지 GSI5010)는 표 6에서 열거된다. 먼저, 항-BCMA V_H 및 항-CD38 V_H 의 아미노산 서열은 상이한 길이일 수 있는 Gly-Ser 링커를 통해 함께 연결되었다. 이후, 연결된 아미노산 서열은 CD8 α 신호 펩티드 서열 뒤에 배치되었다. 코자크-CD8 α 신호 펩티드-이중특이적 V_H 를 포함하는 이러한 합동된 서열은 직접적으로 합성되고, 그리고 당해 분야에서 공지된 정규 분자 클로닝 프로토콜에 의해, EcoRI 및 SpeI 제한 부위를 통해 PLLV-hEF1 α -81373 CAR 중추 내로 클로닝되었다. 상기 CAR 중추 서열은 화학적으로 합성되고, 미리 변형된 렌티바이러스 벡터 하류 내로 클로닝되고, 구조성 hEF1 α 프로모터에 작동가능하게 연결된, CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137 세포질 도메인 및 CD3 ζ 세포질 도메인을 N 말단으로부터 C 말단으로 포함하는 CAR 중추 폴리펩티드를 인코딩한다. 결과의 CAR 중추 벡터는 "PLLV-hEF1 α -81373"으로 명명되었다.

[0908] 추가적으로, BCMA CAR 및 CD38 CAR을 인코딩하는 예시적인 공동발현 벡터가 적합한 스플라이스 기초된 링커 (T2A, P2A, 또는 F2A)를 통해, BCMA 특이적 V_H -기초된 CAR 및 CD38 특이적 V_H -기초된 CAR을 단일 CAR 벡터에 합동함으로써 작제되었다. 가령, GSI5013 구조체는 서열 번호: 239의 핵산 서열을 갖는다. GSI5013에서 핵산 서열은 5'로부터 3'로, CD8 α 신호 펩티드, 38A37717 V_H , CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137 동시 자극성 도메인, CD3 ζ 세포질 신호전달 도메인, T2A, CD8 α 신호 펩티드, 269A37346 V_H , CD8 α 힌지 도메인, CD8 α 막경유 도메인, CD137 동시자극성 도메인 및 CD3 ζ 세포질 신호전달 도메인을 인코딩한다.

[0909] 다가 V_H CARs는 펩티드 링커에 의해 서로에 융합된 단일 V_H 의 복수 사본을 인코딩하는 핵산 염기서열을 CAR 신호 도메인 중추 벡터 내로 도입함으로써 작제될 수 있다. 예시적인 일가 다가 CAR 구조체 (GSI5014, GSI5015, GSI5016, GSI5017)는 표 5에서 열거된다. 이들 구조체는 글리신-세린 링커에 의해 V_H 의 2-3개 사본을 연결하고, 그 이후에 이러한 연결된 서열을 코자크-CD8 α 신호 펩티드 핵산 서열과 합동으로 직접적으로 합성하고, 그리고 EcoRI 및 SpeI 제한 부위를 통해 PLLV-hEF1 α -81373 CAR 중추 내로 클로닝함으로써 제조되었다. 대조로서, 단일 사본 V_H 는 또한, 동일한 방법에 의해 동일한 PLLV-hEF1 α -81373 CAR 중추 내로 클로닝되었다 (GSI5011 및 GSI5012, 표 4에서 열거됨).

[0910] GSI5001 내지 GSI5017의 CAR 유전자를 보유하는 렌티바이러스 벡터는 포장되고, 그리고 실시예 2에서 설명된 바와 같은 프로토콜로 적정되었다. 실시예 2에서 설명된 프로토콜을 이용하여, 인간 PBMCs는 Miltenyi 인간 PanT 세포 분리 키트를 이용한 일차 인간 T 세포의 추가 단리를 위해 지원자의 말초혈로부터 준비되었다. 정제된 T 세포는 실시예 2에서 설명된 바와 같이 Miltenyi 항-CD3/CD28 마이크로비드를 이용하여 미리 활성화되고 확대되었다. 미리 활성화된 T 세포는 이후, 1200 g, 32°C에서 1.5 시간 동안 원심분리에 의해, 7 μ g/mL 폴리브렌의 존재에서 렌티바이러스 스톱으로 형질도입되었다. 형질도입된 세포는 이후, 적합한 조건 하에 도입유전자 발현을 위해 세포 배양 인큐베이터로 이전되었다.

[0911] 형질도입후 3 일자에, 형질도입된 T 세포는 수확되고, 그리고 20 시간 동안 20:1의 작동체 (CAR-T) 대 표적 세포 비율에서 종양 세포와 공동배양되었다. 종양 세포에 대한 CAR-T의 세포독성을 검정하기 위해, One-glo 발광 루시페라아제 검정 시약 (Promega#E6110)이 공동배양된 세포에 첨가되었고, 그리고 각 CAR-T에 대한 특이적 세포독성이 실시예 2에서 설명된 바와 같이 계측되었다.

[0912] 각 군에 대한 통합된 CAR 유전자의 사본수는 반정량적 PCR (q-PCR) 검정에 의해 결정되었다. 간단히 말하면, CAR-T의 각 군으로부터 유전체 DNA는 Gentra Puregene 세포 키트 (Qiagen)로 제조되었다. 유전체 DNA의 농도는 나노드롭에 의해 결정되었고, 그리고 10ng 유전체 DNA 표본은 CAR 특이적 프라이머 (전방 프라이머 137P2F (서열 번호: 252): 5'-GTCCTTCTCCTGTCCTGTTAT-3'; 및 후방 프라이머 137P2R (서열 번호: 253): 5'-TCTTCTTCTCTGGAAATCGCA-3')을 이용하여, ABI#7300 q-PCR 기기에서 SYBR Green 실시간 PCR 마스터 믹스 플러스 (Toyobo)를 이용한 표준화된 q-PCR 검정을 위해 처리되었다. 각 통합된 CAR 유전자의 상대적 사본수는 표적 서열을 내포하는 플라스미드를 이용하여 확립된 표준 곡선에 근거하여 계산되었다.

[0913] 아래의 표 7에서 보여지는 바와 같이, 각 CAR-T 제조물에 대한 사본수가 결정되었고, 그리고 획득된 데이터는 T 세포의 유전체 내로 높은 표적 유전자 통합을 암시하였다.

[0914] 표 7. 유전체 통합 사본수.

표 7

구조체를 갖는 CAR-T 세포	사본수/ng gDNA
GSI5001	18257060
GSI5002	15105810
GSI5003	17307510
GSI5004	2735165
GSI5005	처리되지 않음
GSI5006	6692277
GSI5007	6929693
GSI5008	15549250
GSI5009	10602720
GSI5010	7353348
GSI5011	3089537
GSI5012	650551.3
GSS005	1070972
GSI005	321521
UnT	72.77
물	117

[0916] 도면 3a-3b에서 도해된 바와 같이, BCMA에 대한 단일특이적 V_H CAR (GSI5011) 및 CD38에 대한 단일특이적 V_H

CAR (GSI5012)은 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc에 대한 강력한 세포독성을 보여주었다. 형질도입되지 않은 대조 T 세포 (UnT, $9.25 \pm 1.11\%$)에 의한 비특이적 용해와 비교하여, GSI5011 CAR에서 $42.98 \pm 2.86\%$ RPMI8226.Luc 세포가 용해되었고, 그리고 GSI5012에서 $61.25 \pm 1.92\%$ RPMI8226.Luc 세포가 용해되었다. 이중특이적 CARs GSI5001-GSI5010은 형질도입되지 않은 대조 T 세포 (UnT)와 비교하여, 다발성 골수종 세포주 RPMI8226.Luc의 강력한 특이적 용해를 유도하였다. 도면 3a 및 3b에서 도시된 바와 같이, RPMI8226.Luc 세포의 용해의 특이적 백분율은 형질도입되지 않은 대조 T 세포 (UnT, $9.25 \pm 1.11\%$)에 의한 비특이적 용해와 비교하여, GSI5001-발현 CAR-T 세포의 경우 $98.91 \pm 0.17\%$, GSI5002-발현 CAR-T 세포의 경우 $97.10 \pm 0.26\%$, GSI5003-발현 CAR-T 세포의 경우 $93.85 \pm 0.69\%$, GSI5004-발현 CAR-T 세포의 경우 $82.81 \pm 2.40\%$, GSI5005-발현 CAR-T 세포의 경우 $98.95 \pm 0.66\%$, GSI5006-발현 CAR-T 세포의 경우 $93.91 \pm 1.25\%$, GSI5007-발현 CAR-T 세포의 경우 $96.49 \pm 1.05\%$, GSI5008-발현 CAR-T 세포의 경우 $94.41 \pm 0.75\%$, GSI5009-발현 CAR-T 세포의 경우 $90.72 \pm 0.62\%$, 그리고 GSI5010-발현 CAR-T 세포의 경우 $85.05 \pm 2.69\%$ 이었다. 이들 결과 역시 더욱 짧은 Gly-Ser 링커가 표적 종양 세포에 대한 약간 더 우수한 세포독성 성과를 나타내는 것으로 보인다는 것을 암시하였다. 이런 효과를 연구하기 위해 준최적 검정 조건 하에 추가 연구가 수행될 수 있었다. 게다가, 백터 내에 항-BCMA V_HH 및 항-CD38 V_HH 의 순서는 RPMI8226.Luc 세포에서 최종 세포독성 성과에 대한 유의미한 영향을 보여주지 않았다. 2가지 scFv-기초된 CAR-T 세포 역시 상기 검정에서 제조되었는데, 여기서 GSS005는 항-BCMA scFv-기초된 CAR이었고, 반면 GSI005는 항-CD38 scFv-기초된 CAR이었다. GSS005 및 GSI005 둘 모두 또한, RPMI8226.Luc 세포에 대항하여 강력한 특이적 용해를 보여주었다 (GSS005의 경우 $57.94 \pm 1.91\%$, GSI005의 경우 $61.25 \pm 1.92\%$).

[0917] BCMA-특이적 일가 CAR을 갖는 가공된 T 세포 (GSI5011), BCMA 특이적 이가 CAR (GSI5012) 또는 BCMA 특이적 삼가 CAR (GSI5013) 가공된 T 세포, 그리고 CD38-특이적 일가 CAR (GSI5012), CD38 특이적 이가 CAR (GSI5016) 또는 CD38 특이적 삼가 CAR (GSI5017)을 갖는 가공된 T 세포가 제조되었고, 그리고 세포독성 검정이 앞서 설명된 바와 같이 RPMI8226.Luc 세포에서 수행되었다. 도면 4에서 도시된 바와 같이, RPMI8226.Luc 세포의 특이적 백분율 용해는 형질도입되지 않은 대조 T 세포 (UnT)에 의한 $0.05 \pm 2.33\%$ 와 비교하여, GSI5011-발현 CAR-T 세포에 의해 $63.25 \pm 2.64\%$, GSI5014-발현 CAR-T 세포에 의해 $61.04 \pm 2.75\%$, 그리고 GSI5015-발현 CAR-T 세포에 의해 $59.57 \pm 2.64\%$ 이었다. 또한, 도면 4에서 묘사된 바와 같이, 항-CD38 V_HH CAR-T에 의한 RPMI8226.Luc 세포의 특이적 용해는 형질도입되지 않은 대조 T 세포 (UnT)에 의한 $57.92 \pm 2.88\%$ 와 비교하여, GSI5012-발현 CAR-T 세포에 의해 $95.79 \pm 0.62\%$, GSI5016-발현 CAR-T 세포에 의해 $94.16 \pm 0.31\%$, 그리고 GSI5015-발현 CAR-T 세포에 의해 $97.61 \pm 0.77\%$ 이었다. 상기 데이터는 상이한 항원 결합 양상을 갖는 이들 CARs가 BCMA 양성 세포에 대항하여 강력한 항종양 활성을 갖는다는 것을 암시하였다.

[0919] 실시예 4: 예시적인 CD19xCD20 CAR의 제조, 시험관내 및 생체내 검정

[0920] 예시적인 항-CD19 sdAb 및 항-CD20 sdAb는 실시예 1에서와 유사한 절차에 의해 획득되었다. 이들 단일-도메인 항체는 표 2에서 열거된다. CD19 V_HH 에 근거된 단일특이적 CD19 CAR 및 CD20 V_HH 에 근거된 단일특이적 CD20 CAR은 실시예 2에서 설명된 바와 같이 제조되고 표 4에서 열거되었다. CD19 V_HH 및 CD20 V_HH 에 근거된 예시적인 이중특이적 CD19xCD20 CAR은 실시예 3에서 설명된 바와 같이 작제되고 표 6에서 열거된다. 예시적인 CD19 CAR, CD20 CAR 및 CD19xCD20 CAR을 작제하는데 이용된 CAR 중추 백터는 N 말단으로부터 C 말단으로, CD8 α 신호 펩티드, CD8 α 힌지 도메인, CD28 막경유 도메인, CD28의 세포질 도메인, 그리고 CD3 ζ 의 세포질 도메인을 인코딩한다. 도면 5는 CD19 CAR, CD20 CAR 및 이중특이적 CD19xCD20 CAR의 구조체를 보여준다. CD19 CAR, CD20 CAR 또는 이중특이적 CD19xCD20 CAR을 발현하는 가공된 CAR-T 세포는 실시예 2에서 설명된 바와 같이 제조되었다.

[0921] CAR-T 세포의 세포독성은 4 시간 공동배양 검정에서 결정되었다. 이들 실험에서, 제조된 CAR-T 세포는 원심력으로 수집되고, 이후 10% 인간 AB 혈청을 포함하는 DPBS에 의해 원하는 농도까지 희석되고, 그리고 96 웰 평판에서 배양되었다. CD19 및 CD20의 강한 발현을 전시하는 것으로 공지된 Raji 종양 세포는 칼세인-AM (BD Biosciences)으로 표지화되었다. 표지화된 CAR-T 세포 및 Raji 세포는 37°C에서 10:1의 작동체 대 표적 비율에서 4 시간 동안 배양되었다. 차후에, CAR-T 세포의 세포독성이 FACS에 의해 검출되었다.

[0922] 도면 6 왼쪽 위 패널에서 도시된 바와 같이, 형질도입되지 않은 T 세포에 의한 어떤 유의미한 Raji 세포 용해도 없었다. Raji 세포에 대한 세포독성은 CD19 (39%, 오른쪽 위 패널) 또는 CD20 (41%, 왼쪽 아래 패널) 단일특이적 V_HH CAR-T 세포에 의해 대략 40%이었다. 동일한 CD19 V_HH 및 CD20 V_HH 가 융합되어 동일한 구조체에서, 다시 말하면, CD19xCD20 이중특이적 CAR-T 세포에서 세포의 항원 결합 도메인으로서 역할을 할 때, Raji 종양 세포의

세포독성 (75.24%)이 단일특이적 CD19 V_HH CAR-T 또는 CD20 V_HH CAR-T 세포와 비교하여 증강되었다 (도면 6 오른쪽 아래 패널).

[0923] 생쥐 종양 모형 연구

[0924] NOG 생쥐는 꼬리 정맥 주사를 통해 생쥐마다 4×10^6 Raji 세포가 주입되었다. 10 일 후, 이들 생쥐는 4가지 군으로 무작위로 균등하게 분할되었는데, 여기서 각 군은 각각, 동등한 용량의 형질도입되지 않은 T 세포, CD19 CAR-T 세포, CD20 CAR-T 세포, 또는 CD19xCD20 이중특이적 CAR-T 세포가 주사되고 5 주 동안 연속적으로 관찰되었다.

[0925] 도면 7에서 도시된 바와 같이, 생체내 생존 데이터는 CD19xCD20 이중특이적 CARs로 처리된 생쥐에 대한 전체 생존율이 CD19 또는 CD20 단일특이적 CAR-T 세포로 처리된 생쥐보다 높다는 것을 암시하였다.

[0927] 실시예 5: 2개의 상이한 BCMA 결합 도메인을 갖는 예시적인 단일특이적, 이가 CARs의 제조

[0928] 실시예 2에서 설명된 바와 같은 잠재적 V_HH 클론은 또한, 세포외 항원 결합 도메인에서 2개 또는 그 이상의 상이한 표적 결합 도메인을 갖는 단일특이적, 다가 CARs를 산출하는데 이용될 수 있었다. 2가지 대표적인 항-BCMA sdAb 클론 (클론 269A37353 및 클론 269A37917)이 본 실시예에서 다양한 예시적인 단일특이적, 이가 CAR 구조체를 작제하기 위해 선택되었다.

[0929] 이가 CARs를 표적으로 하는 BCMA (다시 말하면, 이가 BCMA CARs)는 적합한 펩티드 링커 (가령, Gly-Ser 중합체)를 통해 2개의 상이한 BCMA-특이적 V_HH 도메인을 융합하고, 그리고 차후에, 융합 구조체를 CAR 신호 도메인 중추 백터 내로 삽입함으로써 산출될 수 있다. 2개의 상이한 BCMA 결합 도메인 269A37353 및 269A37917을 갖는 예시적인 이가 BCMA CAR 구조체 (GSI5021-GSI5026)는 표 5에서 열거된다. 다양한 길이의 펩티드 링커가 상이한 구조체에서 이용되었다. 구조체 GSI5021-GSI5023은 N 말단으로부터 C 말단으로, CD8 α 신호 펩티드, 269A37353, 펩티드 링커, 269A37917, CD8 α 힌지, CD8 α 막경유 도메인, CD137의 세포질 도메인, 그리고 인간 CD3 ζ의 세포질 도메인을 각각 인코딩하였다. 구조체 GSI5024-GSI5026은 N 말단으로부터 C 말단으로, CD8 α 신호 펩티드, 269A37917, 펩티드 링커, 269A37353, CD8 α 힌지, CD8 α 막경유 도메인, CD137의 세포질 도메인, 그리고 인간 CD3 ζ의 세포질 도메인을 각각 인코딩하였다. 각 구조체는 완전 코딩 서열을 제공하기 위해, 5'에서 코자크 서열에 더욱 융합되었다. 완전 코딩 서열은 직접적으로 합성되고, 그리고 당해 분야에서 공지된 통상적인 분자 클로닝 프로토콜을 이용하여 EcoRI 및 SpeI 제한 부위를 통해 PLLV-hEF1α-81373 CAR 중추 내로 클로닝되었다. 대조적으로, 동일한 CAR 신호 도메인 중추를 갖는 단일특이적, 일가 CARs (GSI5019 및 GSI5020, 표 4에서 열거됨)가 유사한 방법을 이용하여 작제되었다.

[0930] CAR 구조체 GSI5019-GSI5026 각각을 보유하는 렌티바이러스 벡터는 포장되고 실시예 2에서 설명된 바와 같은 프로토콜로 적정되었다. 실시예 2에서 설명된 프로토콜을 이용하여, 인간 PBMCs는 Miltenyi 인간 PanT 세포 분리 키트를 이용하여, 일차 인간 T 세포의 추가 단리를 위해 지원자로부터 말초혈 표본으로부터 준비되었다. 정제된 T 세포는 실시예 2에서 설명된 바와 같이 Miltenyi 항-CD3/CD28 마이크로비드를 이용하여 미리 활성화되고 확대되었다.

[0931] 미리 활성화된 T 세포는 이후, 1200 g, 32°C에서 1.5 시간 동안 원심분리에 의해, 7 μg/mL 폴리브렌의 존재에서 렌티바이러스 스톱으로 형질도입되었다. 형질도입된 세포는 이후, 적합한 조건 하에 도입유전자 발현을 위해 세포 배양 인큐베이터로 이전되었다.

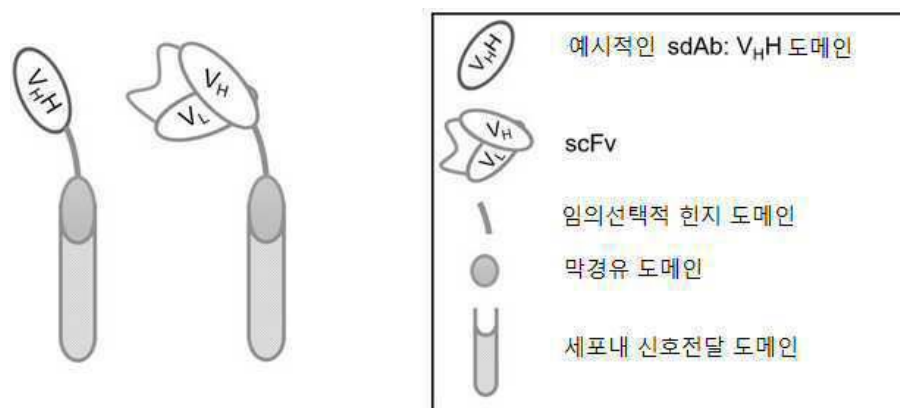
[0932] 형질도입후 3 일자에, 형질도입된 T 세포는 수확되고, 그리고 20 시간 동안 20:1의 작동체 (CAR-T) 대 표적 세포 비율에서 종양 세포 (RPMI8226.Luc 세포 또는 U87MG.Luc 세포)와 공동배양되었다. RPMI8226.Luc 세포는 루시페라아제를 발현하는 다발성 골수종 세포이고 BCMA 양성이다. U87MG.Luc 세포는 루시페라아제를 발현하는 교모세포종 세포이고 BCMA 음성이다. 종양 세포에 대한 이들 CAR-Ts의 세포독성을 검정하기 위해, One-glo 발광 루시페라아제 검정 시약 (Promega#E6110)이 공동배양된 세포에 첨가되었고, 그리고 각 CAR-T에 대한 특이적 세포독성이 실시예 2에서 설명된 바와 같이 계속되었다.

[0933] 도면 8a에서 도시된 바와 같이, RPMI8226.Luc 세포의 용해의 특이적 백분율은 형질도입되지 않은 대조 T 세포 (UnT)에 의한 $13.49\% \pm 1.75\%$ 와 비교하여, 각각, GSI5019-발현 CAR-T 세포에 의해 $88.21 \pm 1.29\%$, GSI5020-발현 CAR-T 세포에 의해 $93.84 \pm 1.13\%$, GSI5021-발현 CAR-T 세포에 의해 $71.45 \pm 1.79\%$, GSI5022-발현 CAR-T 세포에

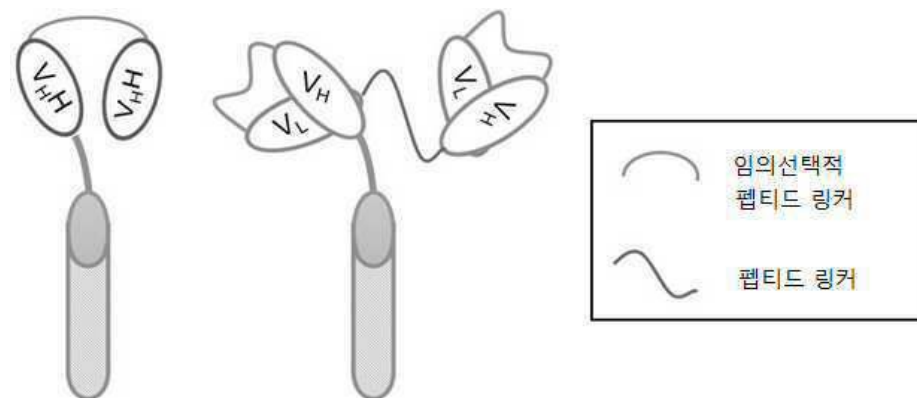
의해 $99.80 \pm 0.45\%$, GSI5023-발현 CAR-T 세포에 의해 $97.46 \pm 0.50\%$, GSI5024-발현 CAR-T 세포에 의해 $81.29 \pm 1.27\%$, GSI5025-발현 CAR-T 세포에 의해 $93.50 \pm 0.47\%$, GSI5026-발현 CAR-T 세포에 의해 $87.83 \pm 0.23\%$ 이었다. 또한, 도면 8b에서 묘사된 바와 같이, BCMA-음성 세포주 U87MG.Luc의 용해의 특이적 백분율은 형질도입되지 않은 대조 T 세포 (UnT)에 의한 $12.49 \pm 3.79\%$ 와 비교하여, GSI5019-발현 CAR-T 세포에 의해 $2.84 \pm 7.41\%$, GSI5020-발현 CAR-T 세포에 의해 $15.50 \pm 2.24\%$, GSI5021-발현 CAR-T 세포에 의해 $6.74 \pm 3.37\%$, GSI5022-발현 CAR-T 세포에 의해 $8.03 \pm 2.36\%$, GSI5023-발현 CAR-T 세포에 의해 $9.00 \pm 1.88\%$, GSI5024-발현 CAR-T 세포에 의해 $17.03 \pm 2.27\%$, GSI5025-발현 CAR-T 세포에 의해 $16.81 \pm 1.98\%$, GSI5026-발현 CAR-T 세포에 의해 $-11.55 \pm 5.43\%$ 이었다. 상기 데이터는 상이한 항원 결합 양상을 갖는 다가 CARs가 BCMA 양성 세포에 대하여 강력한 항종양 활성을 갖지만, BCMA 음성 세포에 대해서는 그렇지 않았다는 것을 암시한다.

도면

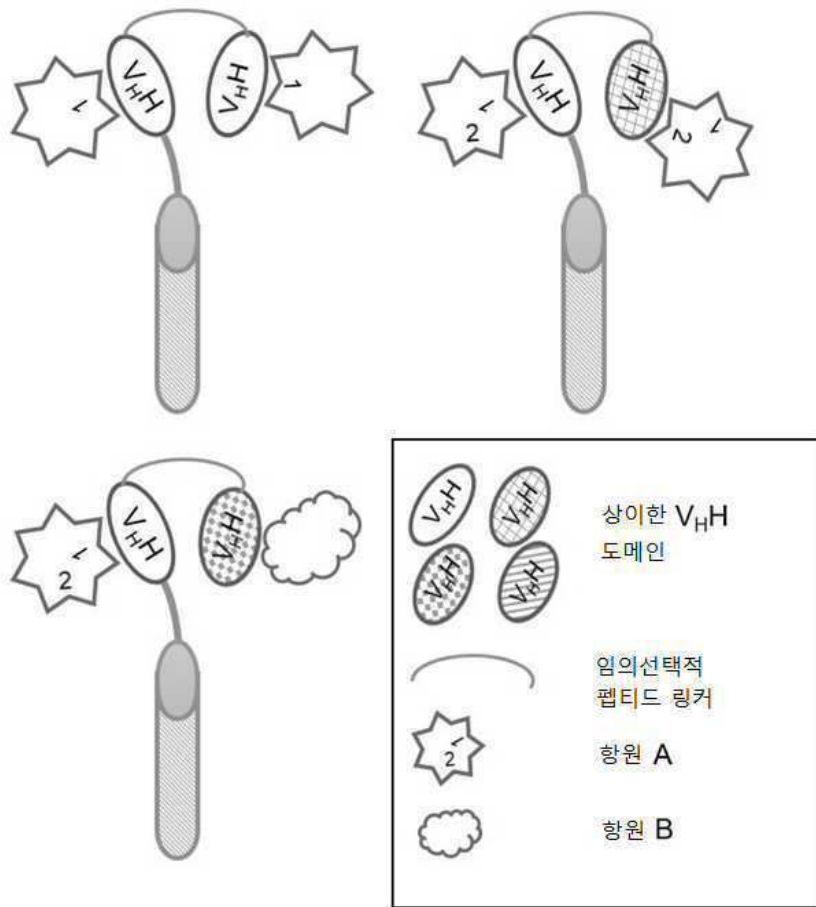
도면1a



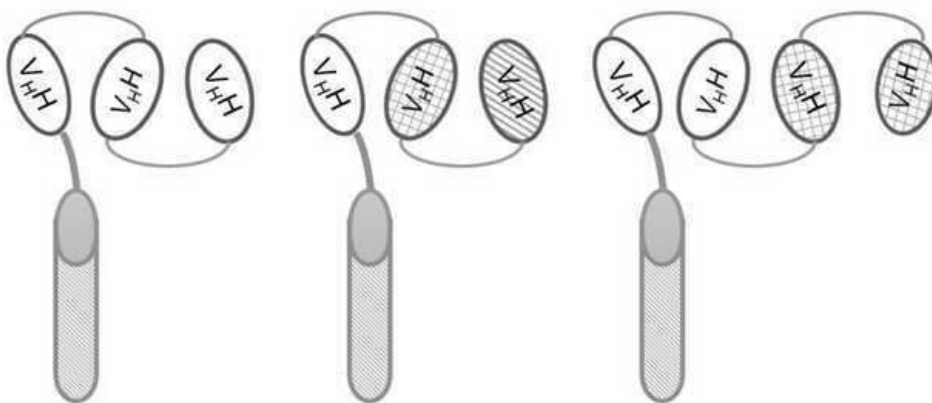
도면1b



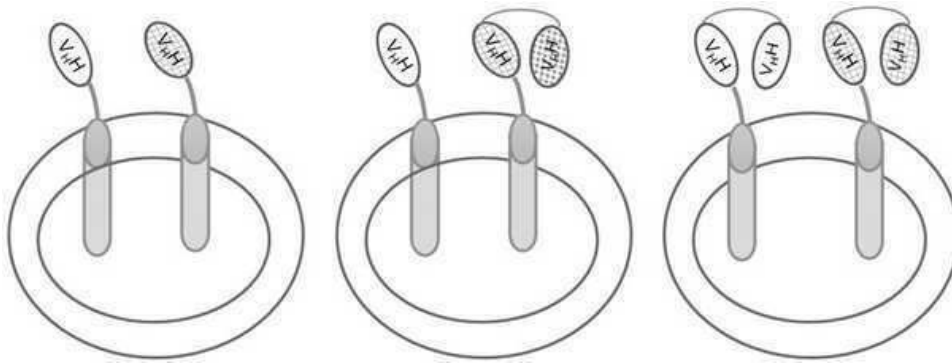
도면1c



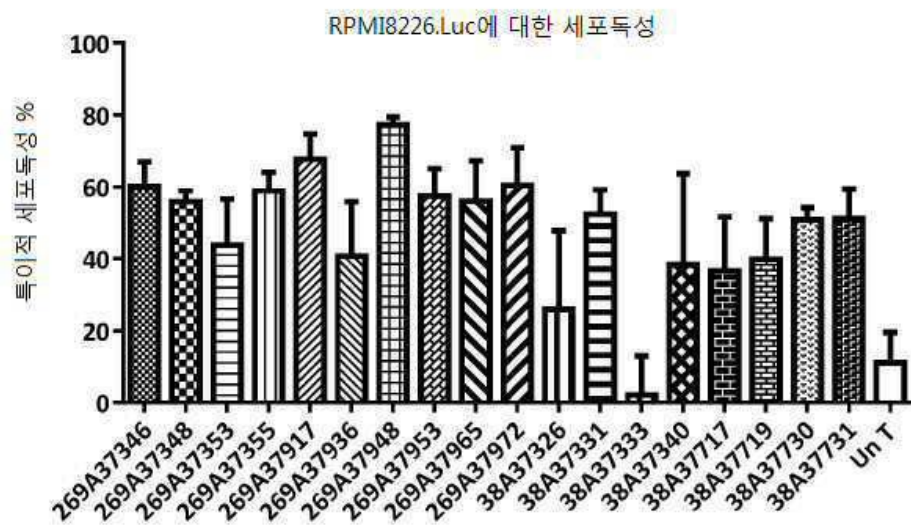
도면1d



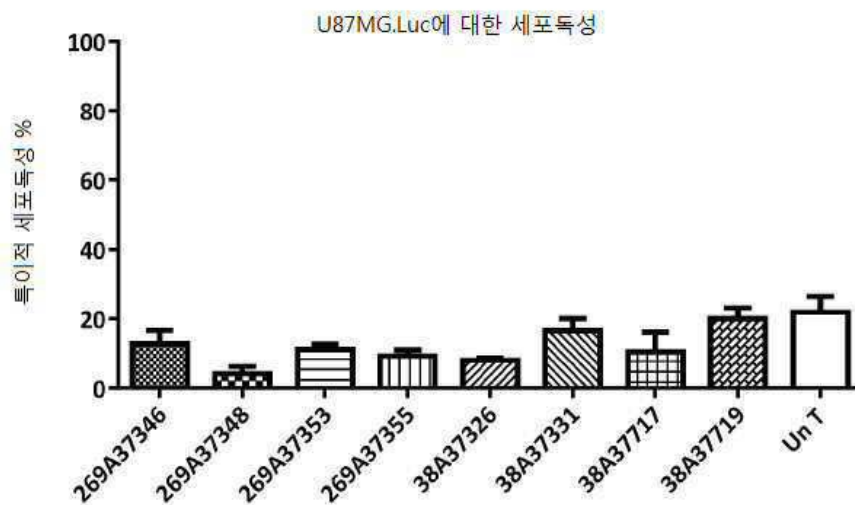
도면1e



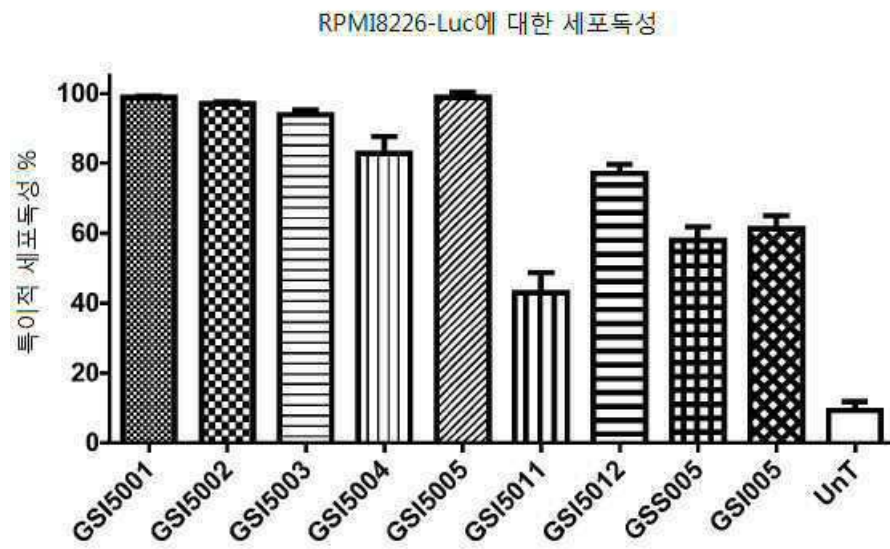
도면2a



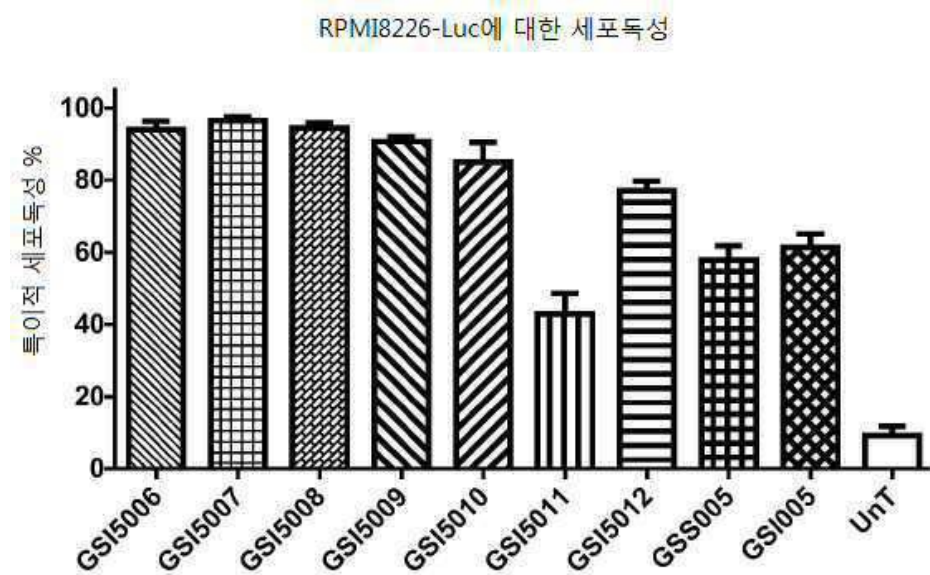
도면2b



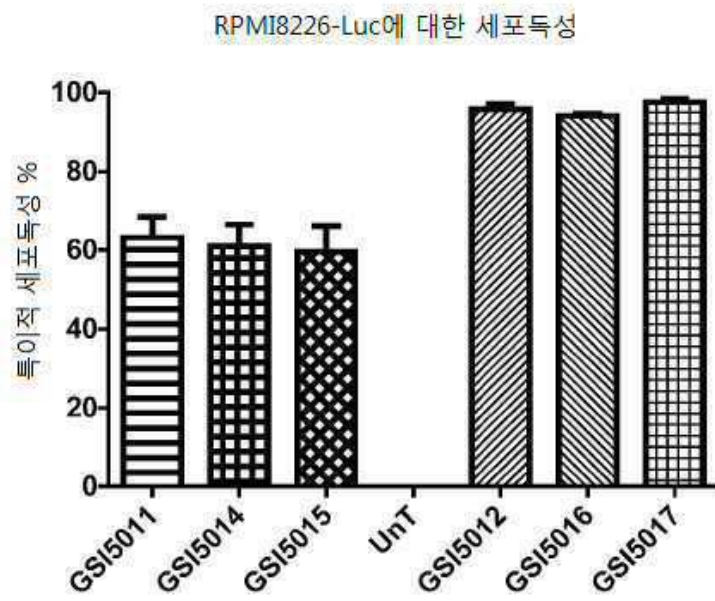
도면3a



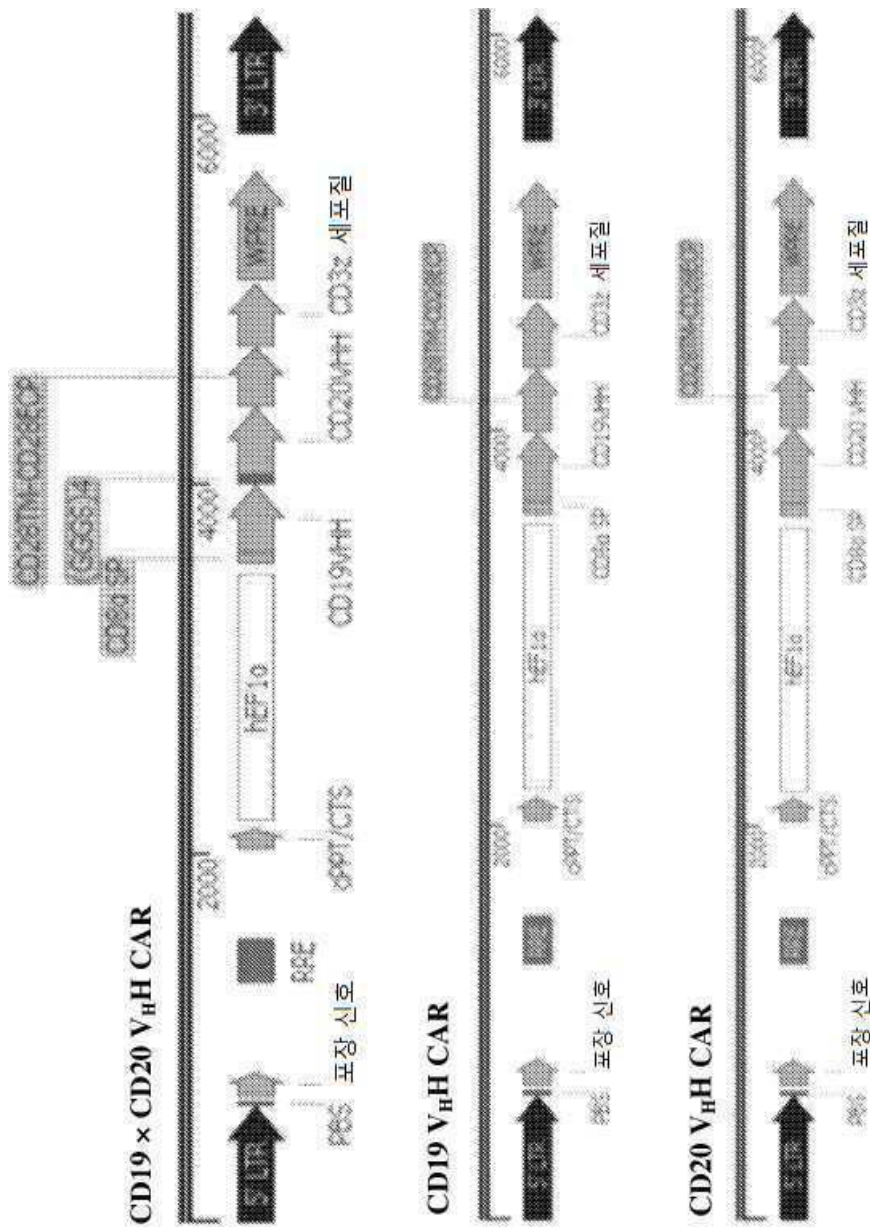
도면3b



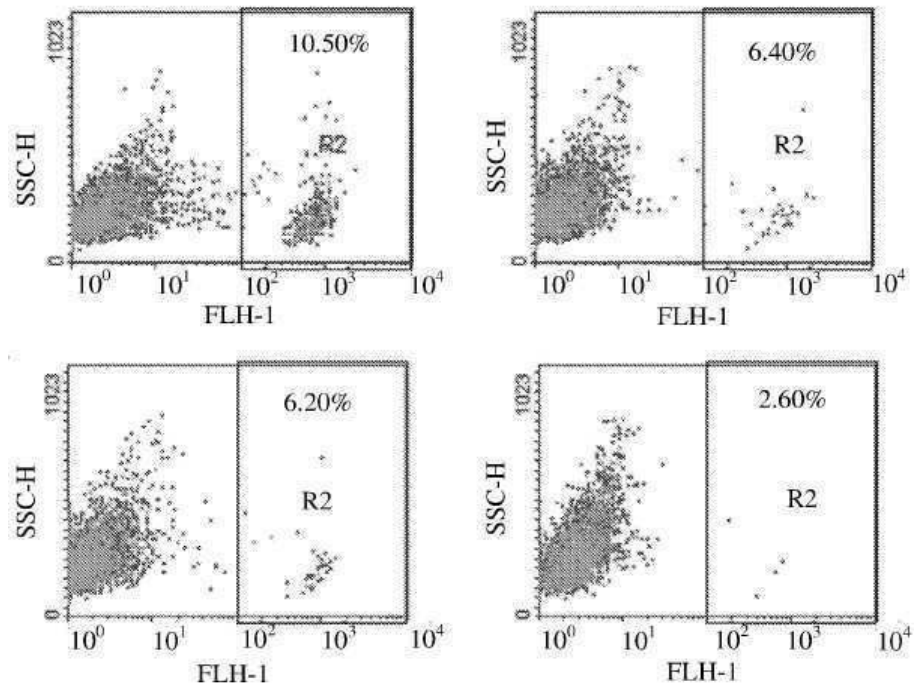
도면4



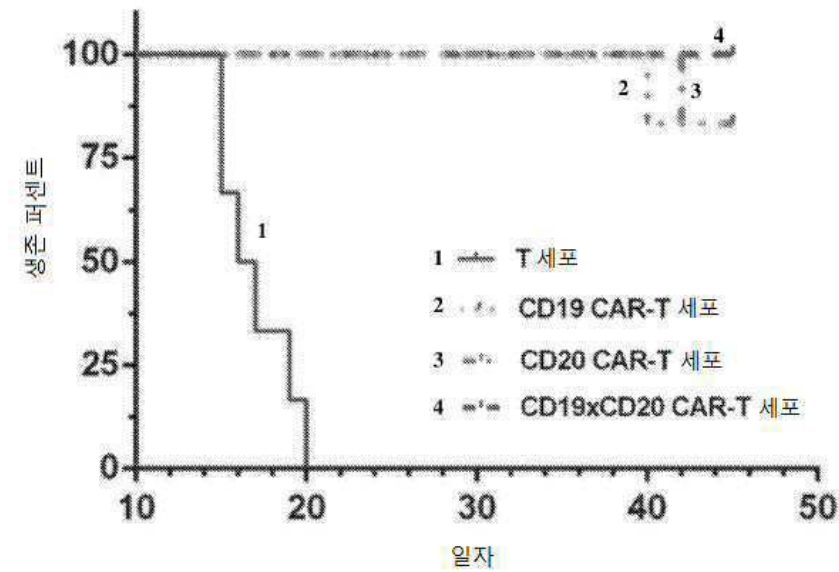
도면5



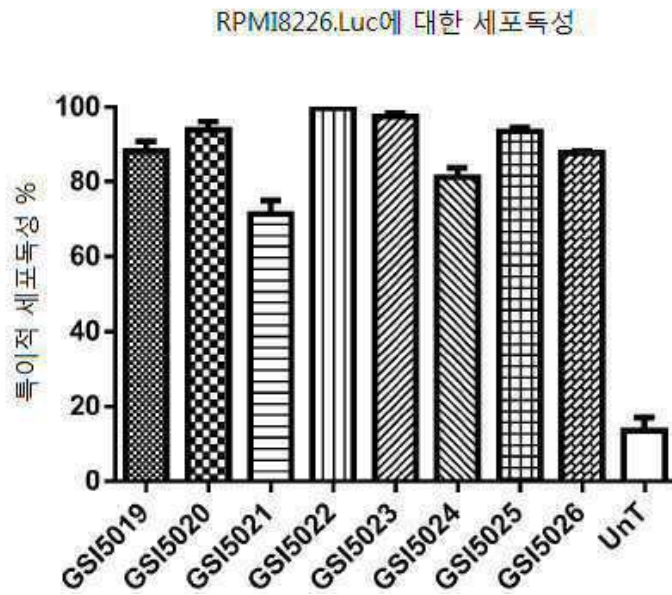
도면6



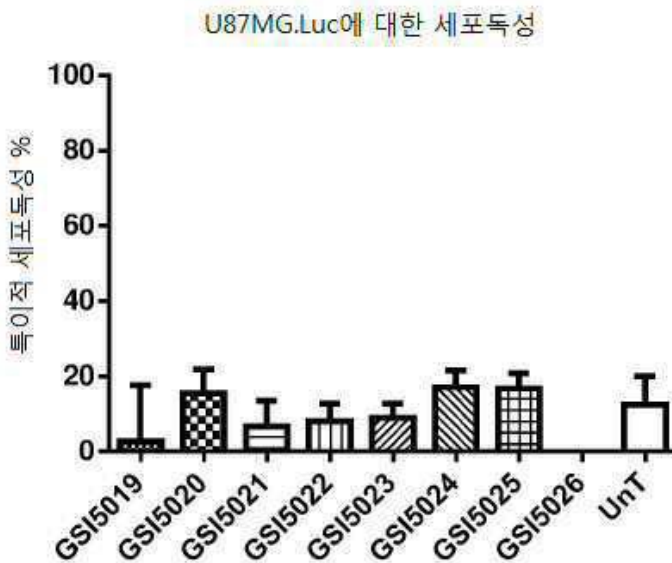
도면7



도면8a



도면8b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> LEGEND BIOTECH IRELAND LIMITED

<120> Chimeric antigen receptors based on single-domain antibodies and methods of use thereof

<130> IPA180131-CN-D1-1

<150> 2015-08-11

<151> 201510490002.8

<150> 2015-11-02

<151> 201510733585.2

<160> 277

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 single-domain antibody VHH CDR1

<400> 1

Ile Asn Arg Met Gly

1 5

<210> 2

<211> 16

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 single-domain antibody VHH CDR2

<400> 2

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

1 5 10 15

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 single-domain antibody VHH CDR3

<400> 3

Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr

1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 single-domain antibody VHH CDR1

<400> 4

Ile Gly Thr Met Gly

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 single-domain antibody VHH CDR2

<400> 5

Ala Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 single-domain antibody VHH CDR3

<400> 6

Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly Arg Tyr His Tyr Asn Pro Ala

1 5 10 15

Val Tyr Asp Tyr

20

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37346 VHH CDR1

<400> 7

Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37348 VHH CDR1

<400> 8

Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37917 VHH CDR1

<400> 9

Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly

1 5

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37355 VHH CDR1

<400> 10

Ser Gly Gly Ile Phe Val Ile Asn Ala Met Gly

1 5 10

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37915 VHH CDR1

<400> 11

Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile Val Met Gly

1 5 10

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37936 VHH CDR1

<400> 12

Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala Val Ile Val

1 5 10

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37953 VHH CDR1

<400> 13

Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly

1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37965 VHH CDR1

<400> 14

Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp His Met Ala

1 5 10

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37972 VHH CDR1

<400> 15

Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala

1 5 10

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37353 VHH CDR1

<400> 16

Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly

1 5 10

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37948 VHH CDR1

<400> 17

Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala

1 5 10

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37346 VHH CDR2

<400> 18

Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 19

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37348 VHH CDR2

<400> 19

Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37917 VHH CDR2

<400> 20

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

1 5 10 15

Gly

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37355 VHH CDR2

<400> 21

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

1 5 10 15

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37915 VHH CDR2

<400> 22

Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37936 VHH CDR2

<400> 23

Phe Ile Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37953 VHH CDR2

<400> 24

Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37965 VHH CDR2

<400> 25

Ala Ile Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37972 VHH CDR2

<400> 26

Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37353 VHH CDR2

<400> 27

Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37948 VHH CDR2

<400> 28

Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37346 VHH CDR3

<400> 29

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

1 5 10

<210> 30

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37348 VHH CDR3

<400> 30

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

1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 31

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

BCMA 269A37917 VHH CDR3

<400> 31

Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr

1 5 10

<210> 32

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37355 VHH CDR3

<400> 32

Val Tyr Val Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr

1 5 10

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37915 VHH CDR3

<400> 33

Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr

1 5 10

<210> 34

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37936 VHH CDR3

<400> 34

Ala Ser Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile Tyr

1 5 10 15

Arg

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37953 VHH CDR3

<400> 35

Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr

1 5 10

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37965 VHH CDR3

<400> 36

Val Leu Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr

1 5 10

<210> 37

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37972 VHH CDR3

<400> 37

Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37353 VHH CDR3

<400> 38

Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37948 VHH CDR3

<400> 39

Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala

1 5 10

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37333 VHH CDR1

<400> 40

Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met Met

1 5 10

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37336 VHH CDR1

<400> 41

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Trp Met Tyr

1 5 10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37699 VHH CDR1

<400> 42

Ser Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn Ala Met Gly

1 5 10

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37331 VHH CDR1

<400> 43

Ser Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe Arg Val Phe Ala Met Ser

1 5 10

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37717 VHH CDR1

<400> 44

Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly

1 5 10

<210> 45

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37719 VHH CDR1

<400> 45

Ser Ala Ser Ile Phe Thr Arg Leu Pro Met Gly

1 5 10

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37330 VHH CDR1

<400> 46

Ser Gly Arg Ala Tyr Ala Thr Met Ala

1 5

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37334 VHH CDR1

<400> 47

Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met Gly

1 5 10

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37730 VHH CDR1

<400> 48

Ser Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly

1 5 10

<210> 49

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37340 VHH CDR1

<400> 49

Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ala

1 5 10

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37731 VHH CDR1

<400> 50

Ser Gly Thr Ile Val Ser Ile Ser Thr Met Gly

1 5 10

<210> 51

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37326 VHH CDR1

<400> 51

Ser Gly Arg Thr Tyr Ala Met Gly

1 5

<210> 52

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37333 VHH CDR2

<400> 52

Arg Ile Ser Asp Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 53

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37336 VHH CDR2

<400> 53

Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val Lys

1	5	10	15
Gly			

<210> 54

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37699 VHH CDR2

<400> 54

Ala Ile Ser Thr Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly

1	5	10	15
<210> 55			

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37331 VHH CDR2

<400> 55

Ser Ile Ser Ser Gly Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1	5	10	15
<210> 56			

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37717 VHH CDR2

<400> 56

Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly

1 5 10 15

<210> 57

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37719 VHH CDR2

<400> 57

Gly Ile Val Pro Ser Gly Arg Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37330 VHH CDR2

<400> 58

His Leu Arg Val Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 59

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37334 VHH CDR2

<400> 59

Glu Ile Ser Ser Gly Gly Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 60

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37730 VHH CDR2

<400> 60

Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37340 VHH CDR2

<400> 61

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

1 5 10 15

Gly

<210> 62

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37731 VHH CDR2

<400> 62

Thr Ile Thr Arg Arg Gly Arg Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 63

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37326 VHH CDR2

<400> 63

Thr Ile Ser Gly Ala Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 64

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37333 VHH CDR3

<400> 64

Ile Leu Gly Leu Pro Thr

1 5

<210> 65

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37336 VHH CDR3

<400> 65

Lys Glu Pro Arg Val Leu Met Ala Tyr Leu Arg Asn Leu Gly Asp Phe

1 5 10 15

Gly Ser

<210> 66

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37699 VHH CDR3

<400> 66

Leu Asn Phe Pro Pro Tyr Val Tyr

1 5

<

210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37331 VHH CDR3

<400> 67

Ala Asp His Thr Phe Thr Gly Asp Phe

1 5

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37717 VHH CDR3

<400> 68

Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr

1 5

<210> 69

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37719 VHH CDR3

<400> 69

Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr

1 5

<210> 70

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37330 VHH CDR3

<400> 70

Gly Pro Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ala Arg Val Ser Asn Pro Gly Asn

1 5 10 15

Tyr Asp Tyr

<210> 71

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37334 VHH CDR3

<400> 71

Ala Pro Glu Arg Gly Ser Ile Trp Tyr Ser Arg Tyr Glu Tyr Lys Tyr

1 5 10 15

<210> 72

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37730 VHH CDR3

<400> 72

Val Ser Gly Trp His Val Phe Val Gly Asp Arg Ile Val

1 5 10

<210> 73

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37340 VHH CDR3

<400> 73

Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr

1 5 10

<210> 74

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37731 VHH CDR3

<400> 74

Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala Ser Ala Tyr Asp Tyr

1 5 10

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37326 VHH CDR3

<400> 75

Ala Gly Lys Trp Phe Pro Ala Ala Asn Glu Tyr

1 5 10

<210> 76

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 single-domain antibody VHH

<400> 76

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

1 5 10 15

Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser Ile Asn

20 25 30

Arg Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Ala Phe Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn

85 90 95

Ala Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 77

<211> 129

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 single-domain antibody VHH

<400> 77

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Gly Ile Gly

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ala Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly Arg Tyr His Tyr Asn

100 105 110

Pro Ala Val Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser

115 120 125

Ser

<210> 78

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37346 VHH

<400> 78

Gln 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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30
Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45
Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37348 VHH

<400> 79

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala

100 105 110

Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 80

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37917 VHH

<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly

20 25 30

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile

35 40 45

Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp

85 90 95

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

100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 81

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37355 VHH

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr

85 90 95

Val Tyr Val Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 82

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37915 VHH

<400> 82

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile

20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 83

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37936 VHH

<400> 83

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile Val Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ser Phe Ile Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu

50 55 60

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

Tyr Arg Trp Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 84

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37953 VHH

<400> 84

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

35 40 45
Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 85

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37965 VHH

<400> 85

Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp

20 25 30

His Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Ala Ile Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Val Leu Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 86

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37972 VHH

<400> 86

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn

20 25 30

Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val

35 40 45

Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys

85 90 95

Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 87

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37353 VHH

<400> 87

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His

20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val

35 40 45

Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 88

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37948 VHH

<400> 88

Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Ala Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 89

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37333 VHH

<400> 89

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

<210> 90

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37336 VHH

<400> 90

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 Ser Asn
20 25 30
Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val

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

100 105 110
 Phe Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 91

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37699 VHH

<400> 91

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn
 20 25 30

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

Ala Ala Ile Ser Thr Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 50 55 60

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

Leu Asn Phe Pro Pro Tyr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 92

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37331 VHH

<400> 92

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe

20 25 30

Arg Val Phe Ala Met Ser Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg

35 40 45

Glu Leu Val Ala Ser Ile Ser Ser Gly Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Asn Ala Asp His Thr Phe Thr Gly Asp Phe Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 93

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37717 VHH

<400> 93

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 94

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37719 VHH

<400> 94

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Ser Ile Phe Thr Arg Leu

20 25 30

Pro Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val

35 40 45

Val Gly Ile Val Pro Ser Gly Arg Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 95

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37330 VHH

<400> 95

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ala Tyr Ala Thr Met

20 25 30

Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala His

35 40 45

Leu Arg Val Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Asn Met Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala

85 90 95

Gly Pro Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ala Arg Val Ser Asn Pro Gly Asn

100 105 110

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

115 120 125

<210> 96

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37334 VHH

<400> 96

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Glu Glu Arg Glu Leu Val

35 40 45

Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Ala Pro Glu Arg Gly Ser Ile Trp Tyr Ser Arg Tyr Glu Tyr Lys Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 97

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37730 VHH

<400> 97

Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Thr Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn

20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Val Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val

35 40 45

Ala Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Arg
85 90 95
Val Ser Gly Trp His Val Phe Val Gly Asp Arg Ile Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 98

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37340 VHH

<400> 98

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Ile Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ala Lys Met Asn Thr Val
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 99

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37731 VHH

<400> 99

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn

85 90 95

Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala Ser Ala Tyr Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ala Ser

115 120

<210> 100

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37326 VHH

<400>

> 100

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

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

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

<210> 101

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 single-domain antibody VHH

<400> 101

caggtaaagc tggaggagtc tgggggagaa ttggtgcagc ctggggggcc tctgagactc 60
 tcctgtgcag cctcgggaaa catcttcagt atcaatcgca tgggtctgta ccgccaggct 120
 ccagggaagc agcgcgcgtt cgtcgcacat attactgttc gtggtataac aaactatgca 180
 gactccgtga agggccgatt caccatttct gtagacaagt ccaaaaacac gatttatctg 240
 cagatgaacg cactcaaacc tgaggacacg gccgtctatt attgtaatgc agtgtcttca 300
 aacagggacc ccgactactg gggccagggg acccaggtca ccgtctctc a 351

<210> 102

<211> 387

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 single-domain antibody VHH

<400> 102

ccggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctggggattc tctgagactc 60
tcctgtgctg cctctggacg caccttcggt attggtacca tgggctggtt ccgccaacct 120
ccaggaagg agcgtgaatt tgtagcagct attaggtgga gtactggtgg cactcgtat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tcccagaca acgccaagct cacggtagat 240
ctgcaaatgg acagcctgaa acctgaagac acggccgttt attactgtgc agcagataga 300
ctgtcccttg atttaagtgg tcgttaccac tacaaccccg ccgtgtatga ctattggggc 360
caggggaccc aggtcacctg ctctca 387

<210> 103

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37346 VHH

<400> 103

caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggttc tctgaggctc 60
tcctgtgaag cctctggatt cactttggat tattatgcca taggctggtt ccgccaggcc 120
ccaggaagg agcgcgaggc ggtcatatgt attagtagaa gtgatggtag cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa aacgggtgtat 240
ctgcaaatga tcagcctgaa acctgaggac acggccgctt attactgtgc agcaggggcc 300
gattgttcgg ggtacctacg agattatgag ttccgggggc aggggaccca ggtcacctgc 360

tcctca 366

<210> 104

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37348 VHH

<400> 104

caggtaaagc tggaggagtc tgggggacga ttggtgcagc caaggggctc tctgagactc 60

tcctgtgcag gctctggacg cactttcagt acctatggta tggcctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt cgtagcgtct aaagcatcga tgaattacag cggtagaaca 180
tactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatcgcca gagacaacgc caagaacatg 240
gtgtttctgc aaatgaacaa cctgaagcct gaggacacgg ccgtttatta ctgtgcagcg 300

ggcactggat gctcaacata tgggtgtttt gacgccaga taatagacta ctggggcaaa 360
gggaccctgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 105

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37917 VHH

<400> 105

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atgggggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcacat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt ttgcaaatg 240

aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcagaccg gaaatcagta 300
atgtctattc ggcccacta ctggggccag gggaccagg tcaccgtctc ctca 354

<210> 106

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37355 VHH

<400> 106

gccgtgcagc tgggtggattc tgggggaggc ttggtgcagc ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggagg tatcttcgtc atcaatgcca tgggttggtt ccgccaggct 120
ccaggaaagc agcgcgagtt ggtcgcactt attcgtggac taggcagaac aaactatgac 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaacaacac ggtgtatctg 240

cagatgaaca gcctggaacc tgaggacacg gccgtctact actgtacagt ctacgttaca 300
ctacttggtg ggggttaatag ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 107

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37915 VHH

<400> 107

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg gaccttcagt agcattgtca tgggctgggt cgcagcaggt 120
ccaggaagg agcgtgagtt ttaggagcg attatgtgga atgatggtat tacatacttg 180
caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca atccaagaa cacggtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgaa acttgaggat acggccgttt attactgtgc agcatccaag 300
ggtagatact cggaatatga gtactggggc caggggaccc aggtcacctg ctctca 357

<210> 108

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37936 VHH

<400> 108

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtgcagg ctgggggctc tctgacagtc 60
tcctgtacag cctctggatt cactttcgac cgtgctgtca tagtctggtt ccgcccaggc 120
cccgggaagg gccgtgaggg ggtctcattt attaaaccta gtgatggcac catatactac 180
attgactccc tgaagggccg attcacgac tccagtgaaca tcgccaagaa tacggtatat 240

ctgcaaatga aaagtctgga atcgaggac tcggccgttt attactgtgc ggcctcgcct 300
gaggactggt acacggattg gatcgactgg agtatatatc ggtggcagca ctggggccag 360
gggacccagg tcactgtctc ctca 384

<210> 109

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37953 VHH

<400> 109

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga atggtgcagg ctggggactc tctgagacta 60
tcctgtgtgc agtctactta caccgtcaat agcgtatgca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatggtat tacatacttg 180

caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acttgaggat acggccgttt attactgtgc agcatccaag 300
ggtagatact cggaatatga gtactggggc caggggaccc aggtcaccgt ctctca 357

<210> 110

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37965 VHH

<400> 110

gcggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
tcctgtacag cctctgggtc aaccttgact aacgatcaca tggcatggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggcgtgaatt tgtagcagct attgactgga gtggtcgtac cacaaattac 180

gcagaccccg tagagggccg attcaccatc tccagaaaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctggaaatga acagcctgaa acttgaggac acggccgttt attactgtgc ggtcctccgc 300
gcttggatct catatgacaa tgactactgg ggccaggggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 111

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37972 VHH

<400> 111

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagg caccttaagt aaaaataccg tggcttggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgggtt tgtagcgtct attacctggg atggtcgtac gacatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacagtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccgttt atgtctgtgc agacttaggg 300

aaatggcctg cgggcccggc ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 112

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37353 VHH

<400> 112

caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggcggtc tctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgaaca caccttcagt agccatgtca tgggctgggt cgcagggt 120

ccagggaagg agcgtgagtc tgttcagtt attggctgga gagatattag cacaagctat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa gacgctgtat 240

ctgcaaatga atagcctgaa acctgaggac acggccgttt actactgtgc agcacgtcgg 300

atcgacgcag ctgactttga ttctggggg caggggaccc aggtcaccgt ctctctcg 357

<210> 113

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37948 VHH

<400> 113

gcggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60

acctgtacag cctctggagc cgccttcagt acctatttca tggcctgggt cgcagggt 120

ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcagga attgcatgga gtggtggtag cacggcgtat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacggtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgaa atctgaggac acggccgttt attactgtgc cagcaggggg 300

attgaggtcg aagagtttgg tgcctggggc caggggaccc aggtcaccgt ctctctcg 357

<210> 114

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37333 VHH

<400> 114

gatgtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggatt gaccttcagt agctacccca tgatgtgggt ccgccaggct 120
ccaggaaagg ggctcgagtg ggtctcacgt attagcgata gtggtgggta cacaaactat 180

gacgactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgac acctgaggac acggccgtgt attactgtag aatcctgggg 300
ttgcccacca cgggccaggg gaccaggctc accgtctcct ca 342

<210> 115

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37336 VHH

<400> 115

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctggtgcagc ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agcaactgga tgtattgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctcgagtg ggtcgcaact attagtactg atggtcgtgg aacatactat 180

aaagactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acgccatgag tacgctgctt 240
ctgcaaatga acaatctgaa atctgaagat acggccgtgt attattgtgc aaaagagccg 300
agggtgttga tggcttacct gcggaacctg ggtgactttg gttcctgggg ccaggggacc 360
caggtcacccg tctcctcg 378

<210> 116

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37699 VHH

<400> 116

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaag gatcttcagt atcaatgccca tgggctggta ccgccaggct 120

ccagggaagc agcgcgagtt ggtcgccgct attagtacgg ctggtagcac aaactatgga 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg 240

caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca gctgtttatt actgtaattt aaattttccc 300
ccgtatgtgt actggggcca ggggaccag gtcaccgtct cctca 345

<210> 117

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37331 VHH

<400> 117

caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggt ctggtgcagc ctggggagtc tctgagactc 60
tcctgttcag cctctggaag catcttcaaa gttttcagag tctttgccat gagctggtac 120

cgccagggtc ccgggaaaca gcgcgagttg gtcgcatcca ttagtagtgg cgagaccaca 180
acctatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaatacg 240
gcgtatctgc aaatggacag cctgaaacct gaggacacgg ccgtctatta ctgtaatgcg 300
gatcacacct ttacaggaga cttctggggc caggggaccc aggtcaccgt ctctca 357

<210> 118

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37717 VHH

<400> 118

gaggtgcagc tgggtgaaag cgggggggga ctggtgcagg caggcgggtc actgagactg 60
tcatgtatcg caactgggaa ggtgttttagc atctacgaca tgggctggtg taggcaggca 120

ccaggaaagc agaggagct ggtggccgag atcaccagct ccggcaccac aactacgac 180
gatttcgtgt ctggccggtt taccatcagc agagacaacg ccaagaatac agtgtatctg 240
cagatgaaca cctgaagc cgaggataca gccgtgtact attgccgggc taatcacgtc 300
ttcggcggt cctactgggg gcagggaact caggteactg tgtcatcc 348

<210> 119

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37719 VHH

<400> 119

caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc tcggtgcaga ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cccttgcaag catcttcact aggctgcca tgggctggta ccgccaggct 120

ccagggaagc agcgcgagtt ggtcgtaggc attgttccta gtggtaggat aaactatgca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgcgccc tgaggacaca gccgtctatt actgccgcgc cgataccttc 300
cccttgccca cctggggcca ggggacccag gtcaccgtct cctca 345

<210> 120

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37330 VHH

<400> 120

cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggactc tctgagactc 60
tcctgtgcag cccttggaag cgcctacgt acgatggcct ggttcgcca ggctccaggg 120

aaggagcgtg agtttgtagc acatctgcgc gtgagtgggtg ataccactta ctatacagac 180
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gacaacgcca agaacacggc gtatctgcaa 240
atgaacatgt tgaaacctga ggacacggcc gtttattact gtgcagcggg accgtatggc 300
attcttgccg ctgccagggt cagtaatcca ggaaattatg attattgggg ccaggggacc 360
caggtcaccg tctcctca 378

<210> 121

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37334 VHH

<400> 121

gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cccttggaag caccctcagt agttatatta tgggctgggt ccgccaggct 120
ccaggcgagg agcgcgagtt ggtcgcggaa attagtagcg gtggtatgac atcgtatgca 180

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaagac ggggtatctg 240
 caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccgtttact attgtgcagc ccctgagagg 300
 ggtagtatct ggtacagccg ctacgaatat aagtactggg gccaggggac ccaggtcacc 360
 gtctcctca 369

<210> 122

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37730 VHH

<400> 122

gccgtgcagc tgggtggattc tgggggaggc ttggcgacga ctggggggtc tctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctcaagg gatcttcact atcaatgcc a tgggctggta ccgccaggtt 120
 ccagggaagc agcgggagtt ggtcgcagaa gttagtagtg gtggccgcac agactatgca 180
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtacctg 240
 caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca ggcgtctatt attgtcgagt ttctggatgg 300
 catgtgtttg tcggtgaccg catagtttgg ggccagggca ccttggtcac tgtctcctca 360

<210> 123

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37340 VHH

<400> 123

gatgtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggactc tctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggacg caccttcagt agctatgcc a tggcctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg agcgtgagat tgtttcgtct atcagtacca gtggttggtat cacagactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccaaagaca gcgcgaagat gaacacggtg 240
 tatctgcaaa tgaatagcct agaacctgag gacacggccg ttactactg tgcggcccg 300
 acatggtacc ttcgtacttc tctccaatat gactattggg gccaggggac ccaggtcacc 360
 gtctcctca 369

<210> 124

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37731 VHH

<400> 124

caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggaac catcgtcagt atcagtacca tgggctggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgagtt ggtcgcgact ataaccaggc gtggacgcac gaactataca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaaaaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca gccgtctatt actgtaatgc agaggtgcaa 300
ctggatatat gggcatctgc gtatgactac tggggccagg ggacccaggt caccgtcgcc 360

tca 363

<210> 125

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37326 VHH

<400> 125

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg cacctatgcc atgggctggt atgccaggc tccagggaag 120
cagcgcgact tggtcgcaac tattagtggc gcgggtaaca caaagtatgc agactccgtg 180
aagggccgat tcaccatctc cagagacaac gccaagaaca caatgtatct gcaaatgaac 240
agcctgaaac ctgaggacac ggccgtttat tactgtgccg cgggtaaatg gttccctgct 300

gcgaatgagt actggggcca ggggacccag gtcaccgtct cctca 345

<210> 126

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Kozak nucleic acid sequence

<400> 126

gccgccacc 9

<210> 127

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8alpha signal peptide

<400> 127

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> 128

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8alpha signal peptide nucleic acid sequence 1

<400> 128

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccg 63

<210> 129

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8alpha signal peptide nucleic acid sequence 2

<400> 129

atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgccgcaaga 60

ccc 63

<210> 130

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8alpha hinge

<400> 130

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> 131

<211> 135

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8alpha hinge

<400> 131

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60

tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120

gacttcgcct gtgat 135

<210> 132

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8alpha transmembrane

<400> 132

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> 133

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 transmembrane

<400> 133

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20 25

<210> 134

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8alpha transmembrane

<400>

> 134

atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtgggtcc ttctcctgtc actggttatac 60

accctttact gc 72

<210> 135

<211> 81

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 transmembrane

<400> 135

ttttgggtgc tgggtggtgt tgggtggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtgc 60

gcctttatta ttttctgggt g 81

<210> 136

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 cytoplasmic aa sequence

<

400> 136

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 137

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD137 cytoplasmic domain

<400> 137

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> 138

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 cytoplasmic na sequence

<400> 138

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60

gggccccccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120

tcc

123

<210> 139

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD137 cytoplasmic domain

<400> 139

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
gaactg 126

<210> 140

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> wt CD3z cytoplasmic domain

<400> 140

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 Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
50 55 60

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
65 70 75 80
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
85 90 95
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
100 105 110
Arg

<210> 141

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Q65K CD3z cytoplasmic domain

<400> 141

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr

85 90 95

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

100 105 110

Arg

<210> 142

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> wt CD3z cytoplasmic domain

<400> 142

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac caggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 143

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Q65K CD3z cytoplasmic domain

<400> 143

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
cgggacacctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
gaactgcaga aagataagat ggccgaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 144

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker sequence 1

<400> 144

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker sequence 2

<400> 145

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 146

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker sequence 3

<400> 146

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

1 5 10 15

<210> 147

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker sequence 4

<400> 147

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

1 5 10 15

Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20

<210> 148

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker sequence 5

<400> 148

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser

<210> 149

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence 6

<400> 149

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

1 5 10 15

<210> 150

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence 7

<400> 150

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> 151

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence 8

<400> 151

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

20 25

<210> 152

<211> 420

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37346 CAR

<400> 152

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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln

20 25 30

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg

35 40 45

Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly

50 55 60

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg

85 90 95

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

100 105 110

Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly

115 120 125

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

130 135 140

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg

145 150 155 160

Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg

165 170 175

Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly

180 185 190

Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val

195 200 205

Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp

210 215 220

Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
 225 230 235 240
 Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
 245 250 255

Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 260 265 270
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 275 280 285
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 290 295 300
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 305 310 315 320

Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 325 330 335
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 340 345 350
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 355 360 365
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 370 375 380

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

Leu Pro Pro Arg
 420

<210> 153

<211> 426

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37348 CAR

<400> 153

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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
20 25 30

Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg
35 40 45

Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala
50 55 60

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys
65 70 75 80

Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
85 90 95

Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu
100 105 110

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
115 120 125

Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile
130 135 140

Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
145 150 155 160

Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
165 170 175

Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
180 185 190

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu
195 200 205

Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val
210 215 220

Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His
225 230 235 240

Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys
245 250 255

His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
260 265 270

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
275 280 285

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
290 295 300

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
305 310 315 320

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
325 330 335

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

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
355 360 365

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
370 375 380

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
385 390 395 400

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
405 410 415

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
420 425

<210> 154

<211> 416

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37917 CAR

<400> 154

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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln

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

 85 90 95
 Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu
 100 105 110
 Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser
 115 120 125
 Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 130 135 140
 Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

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

 210 215 220
 Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
 225 230 235 240
 Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
 245 250 255

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

385 390 395 400

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

405 410 415

<210> 155

<211> 418

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37355 CAR

<400> 155

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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln

20 25 30

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

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

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

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

 Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
 245 250 255
 Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
 260 265 270
 Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
 275 280 285

Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
290 295 300

Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
305 310 315 320

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
325 330 335

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

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

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
370 375 380

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385 390 395 400

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
405 410 415

Pro Arg

<210> 156

<211> 417

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37915 CAR

<400> 156

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
35 40 45

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile Val Met Gly

50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile
 65 70 75 80
 Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
 100 105 110
 Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
 115 120 125

 Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
 130 135 140
 Thr Val Ser Ser Thr Ser 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 Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
 195 200 205
 Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
 210 215 220
 Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 225 230 235 240
 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 245 250 255

 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
 260 265 270
 Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
 275 280 285
 Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
 290 295 300

Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305 310 315 320

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
325 330 335

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

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

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
370 375 380

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

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
405 410 415

Arg

<210> 157

<211> 426

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37936 CAR

<400> 157

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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Thr
35 40 45

Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala Val Ile Val
50 55 60

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val Ser Phe Ile

65	70	75	80
Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu Lys Gly Arg			
	85	90	95
Phe Thr Ile Ser Ser Asp Ile Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met			
	100	105	110
Lys Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser			
	115	120	125
Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile Tyr Arg Trp			
	130	135	140
Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr			
	145	150	155
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser			
	165	170	175
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly			
	180	185	190
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu			
	195	200	205
Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val			
	210	215	220
Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His			
	225	230	235
Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys			
	245	250	255
His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser			
	260	265	270
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met			
	275	280	285
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe			
	290	295	300
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg			
	305	310	315
			320

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
325 330 335

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

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
355 360 365

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
370 375 380

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
385 390 395 400

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
405 410 415

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
420 425

<210> 158

<211> 417

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37953 CAR

<400> 158

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
35 40 45

Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly
50 55 60

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile
65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

100 105 110

Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser

115 120 125

Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val

130 135 140

Thr Val Ser Ser Thr Ser 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 Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

195 200 205

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

210 215 220

Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

225 230 235 240

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

245 250 255

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

260 265 270

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu

275 280 285

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu

290 295 300

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

305 310 315 320

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

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

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

355 360 365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu

370 375 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr

385 390 395 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

405 410 415
Arg

<210> 159

<211> 418

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37965 CAR

<400> 159

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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln

20 25 30

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

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

50 55 60

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile

65 70 75 80

Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Glu Gly Arg

85 90 95

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

100 105 110

Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Val Leu

115 120 125

Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln

130 135 140

Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro

145 150 155 160

Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu

165 170 175

Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp

180 185 190

Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala

195 200 205

Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg

210 215 220

Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

225 230 235 240

Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro

245 250 255

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

260 265 270

Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu

275 280 285

Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys

290 295 300

Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

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

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

355 360 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly

370 375 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser

385 390 395 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro

405 410 415
Pro Arg

<210> 160

<211> 418

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37972 CAR

<400> 160

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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln

20 25 30

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg

35 40 45

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

50 55 60

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile

65 70 75 80

Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125
Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln

130 135 140
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro

145 150 155 160
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu

165 170 175
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp

180 185 190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala

195 200 205
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg

210 215 220
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

225 230 235 240
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro

245 250 255
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu

260 265 270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu

275 280 285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys

290 295 300
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys

305 310 315 320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu

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

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

355 360 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly

370 375 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385 390 395 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
405 410 415
Pro Arg

<210> 161

<211> 417

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37353 CAR

<400> 161

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

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

Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val

130 135 140

Thr Val Ser Ser Thr Ser 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 Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

195 200 205

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

210 215 220

Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

225 230 235 240

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

245 250 255

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

260 265 270

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu

275 280 285

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr

385 390 395 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
405 410 415
Arg

<210> 162

<211> 417

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37948 CAR

<400> 162

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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln

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

85 90 95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
100 105 110
Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg
115 120 125
Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
130 135 140

Thr Val Ser Ser Thr Ser 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 Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

195 200 205

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

210 215 220

Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

225 230 235 240

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

245 250 255

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

260 265 270

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu

275 280 285

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr

385 390 395 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

 405 410 415
Arg

<210> 163

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37333 CAR

<400> 163

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 Val Asn Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

20 25 30

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

35 40 45

Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Ser Asp Ser Gly Gly Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ile Leu Gly Leu Pro Thr Thr Gly

115 120 125

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser

130 135 140

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

145 150 155 160

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly

165 170 175

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val

180 185 190

Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr

195 200 205

Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu

210 215 220

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg

225 230 235 240

Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg

245 250 255

Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe

260 265 270

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg

275 280 285

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

290 295 300

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr

305 310 315 320

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys

325 330 335

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn

340 345 350

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu

355 360 365

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

370 375 380

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr

385 390 395 400

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

405

410

<210> 164

<211> 423

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37336 CAR

<400> 164

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 Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

20 25 30

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

35 40 45

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly

65 70 75 80

Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp

85 90 95

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

100 105 110

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Glu Pro Arg Val Leu Met Ala

115 120 125

Tyr Leu Arg Asn Leu Gly Asp Phe Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln

130 135 140

Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro

145 150 155 160

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu

165 170 175

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His

180 185 190
 Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val
 195 200 205
 Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 210 215 220
 Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr
 225 230 235 240
 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln
 245 250 255

 Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly
 260 265 270
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 275 280 285
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 290 295 300
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 305 310 315 320

 Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 325 330 335
 Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 340 345 350
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 355 360 365
 Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 370 375 380

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

<210> 165

<211> 412

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37699 CAR

<400> 165

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 Val Asn Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro

50 55 60

Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ala Ile Ser Thr Ala Gly Ser Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Leu Asn Phe Pro Pro Tyr Val Tyr Trp

115 120 125

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr

130 135 140

Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile

145 150 155 160

Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala

165 170 175

Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp

180 185 190

Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val

195 200 205
 Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
 210 215 220
 Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
 225 230 235 240
 Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
 245 250 255
 Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
 260 265 270

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

 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 340 345 350
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 355 360 365
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 370 375 380
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 385 390 395 400

 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 405 410

 <210> 166
 <211> 416
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37331 CAR

<400> 166

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 Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser

35 40 45

Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe Arg Val Phe Ala Met Ser Trp Tyr Arg

50 55 60

Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Ile Ser Ser Gly

65 70 75 80

Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

85 90 95

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys

100 105 110

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Asp His Thr Phe Thr

115 120 125

Gly Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg

130 135 140

Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

145 150 155 160

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys

165 170 175

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala

180 185 190

Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr

195 200 205

Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

210 215 220

Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

225 230 235 240

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

245 250 255

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

385 390 395 400

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

405 410 415

<210> 167

<211> 413

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37717 CAR

<400> 167

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

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

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

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

245 250 255
Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
260 265 270
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
275 280 285
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
290 295 300
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln
305 310 315 320

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
325 330 335
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
340 345 350
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
355 360 365
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
370 375 380

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
385 390 395 400
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
405 410

<210> 168

<211> 412

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37719 CAR

<400> 168

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly

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

 85 90 95
 Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr Trp
 115 120 125
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr
 130 135 140
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile

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

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

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys

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

340 345 350
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
355 360 365
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
370 375 380
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
385 390 395 400
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

405 410
<210> 169
<211> 423
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> CD38 38A37330 CAR
<400> 169
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 Val Asn Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
35 40 45

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

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

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

 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln
 245 250 255
 Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly
 260 265 270
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 275 280 285
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu

290 295 300

Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
305 310 315 320

Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
325 330 335

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
340 345 350

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
355 360 365

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
370 375 380

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
385 390 395 400

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
405 410 415

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
420

<210> 170

<211> 420

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37334 CAR

<400> 170

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 Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
35 40 45

Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro

50 55 60
 Gly Glu Glu Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 85 90 95
 Ala Lys Lys Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Pro Glu Arg Gly Ser Ile Trp Tyr
 115 120 125

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

 Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
 195 200 205
 Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
 210 215 220
 Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
 225 230 235 240
 Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
 245 250 255

 Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 260 265 270
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 275 280 285
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly
 290 295 300

Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
305 310 315 320

Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
325 330 335

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

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

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
370 375 380

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
385 390 395 400

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
405 410 415

Leu Pro Pro Arg
420

<210> 171

<211> 417

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37730 CAR

<400> 171

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 Val Asn Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Leu Ala Gln Thr Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
35 40 45

Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Val Pro
50 55 60

Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr

65			70					75					80				
Asp	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn		
			85					90					95				
Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp		
			100					105					110				
Thr	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Arg	Val	Ser	Gly	Trp	His	Val	Phe	Val	Gly		
			115					120					125				
Asp	Arg	Ile	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr		
130								135					140				
Arg	Arg	Met	His	Thr	Ser	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	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys		
195								200					205				
Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser		
210			215					220									
Lys	Arg	Ser	Arg	Leu	Leu	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg		
225			230					235					240				
Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg		
			245					250					255				
Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr		
			260					265					270				
Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu		
275			280					285									
Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu		
290			295					300									
Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Lys	Gln		
305			310					315					320				

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
325 330 335

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

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

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
370 375 380

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

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
405 410 415

Arg

<210> 172

<211> 420

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37340 CAR

<400> 172

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 Val Asn Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
35 40 45

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro
50 55 60

Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val Ser Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Ile
65 70 75 80

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

85	90	95
Ser Ala Lys Met Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro		
100	105	110
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg		
115	120	125
Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val		
130	135	140
Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg		
145	150	155
		160
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg		
165	170	175
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly		
180	185	190
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val		
195	200	205
Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp		
210	215	220
Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met		
225	230	235
Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala		
245	250	255
Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys		
260	265	270
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr		
275	280	285
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly		
290	295	300
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala		
305	310	315
Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg		
325	330	335

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

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

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
370 375 380

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
385 390 395 400

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
405 410 415

Leu Pro Pro Arg
420

<210> 173

<211> 418

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37731 CAR

<400> 173

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 Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
35 40 45

Gly Thr Ile Val Ser Ile Ser Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
50 55 60

Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Thr Ile Thr Arg Arg Gly Arg Thr
65 70 75 80

Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp

100	105	110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala		
115	120	125
Ser Ala Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ala Ser		
130	135	140
Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro		
145	150	155
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu		
165	170	175
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp		
180	185	190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala		
195	200	205
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg		
210	215	220
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro		
225	230	235
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro		
245	250	255
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu		
260	265	270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu		
275	280	285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys		
290	295	300
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys		
305	310	315
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu		
325	330	335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly		
340	345	350

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

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
370 375 380

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385 390 395 400

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
405 410 415

Pro Arg

<210> 174

<211> 412

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37326 CAR

<400> 174

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 Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
35 40 45

Gly Arg Thr Tyr Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln
50 55 60

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

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Lys Trp Phe Pro Ala Ala Asn Glu Tyr Trp

115 120 125
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr
 130 135 140
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 145 150 155 160
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 165 170 175
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp
 180 185 190
 Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
 195 200 205
 Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
 210 215 220
 Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
 225 230 235 240
 Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
 245 250 255
 Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
 260 265 270
 Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
 275 280 285
 Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
 290 295 300
 Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 305 310 315 320
 Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 325 330 335
 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 340 345 350
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 355 360 365

Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
370 375 380

Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
385 390 395 400
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
405 410

<210> 175

<211> 1263

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37346 CAR

<400> 175

atggccttac cagtaccgc cttgtcctcg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcagcctg ggggttctct gaggtctcc tgtgaagcct ctggattcac ttggattat 180

tatgccatag gctggttccg ccaggcccca gggaaggagc gcgaggggt catatgtatt 240
agtagaagt atggttagcac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaaaac ggtgtatctg caaatgatca gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgcttatt actgtgcagc aggggccgat tgttcgggt acctacgaga ttatgagttc 420
cgggggcagg ggaccagggt caccgtctcc tcaactagta ccacgacgc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgccac catcgctcg cagccctgt ccctgcgcc agaggcgtgc 540
cgccagcgg cggggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcctg tgatttttg 600
gtgctggtg tggttggtg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggcctt 660

attattttct gggtagagg taagaggagc aggtcctgc acagtgacta catgaacatg 720
actccccgc gcccgggcc caccgcaag cattaccagc cctatgccc accacgcgac 780
ttcgagcct atcgctcaa acggggcaga aaaaaactcc tgtatatatt caaacaacca 840
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttcagaa 900
gaagaagaag gaggatgtga actgagagt aagttcagca ggagcgaga cgccccgcg 960
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
gatgttttg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1080

aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1140

gagattggga tgaaggcgga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200

ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1260

tga 1263

<210> 176

<211> 1281

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37348 CAR

<400> 176

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cggccagg 60

ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggacgattg 120

gtgcagccaa ggggctctct gagactctcc tgtgcaggct ctggacgcac tttagtacc 180

tatggtatgg cctgggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagttcgt agcgtctaaa 240

gcatcgatga attacagcgg tagaacatac tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc 300

atgccagag acaacgcaa gaacatggtg tttctgcaaa tgaacaacct gaagcctgag 360

gacacggcgg tttattactg tgcagcgggc actggatgct caacatatgg gtgttttgac 420

gcccagataa tagactactg gggcaaaggg accctggtca ccgtctctc aactagtacc 480

acgacgccag cggcgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 540

ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac 600

ttgcctgtg atttttgggt gctggtggtg gttggtggag tcctggcttg ctatagcttg 660

ctagtaacag tggcctttat tattttctgg gtgaggagta agaggagcag gtcctgcac 720

agtgactaca tgaacatgac tccccgccg cccgggcccc cccgcaagca ttaccagccc 780

tatgccccac cagcgcactt cgcagcctat cgtccaaac ggggcagaaa gaaactcctg 840

tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 900

agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg 960

agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1020

ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1080

ggaaagccga gaaggaagaa cctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1140

atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1200

gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1260

caggccctgc cccctcgctg a 1281

<210> 177

<211> 1251

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37917 CAR

<400> 177

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgcigctcca cgccgccagg 60

ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120

gtgcaggctg gggggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacgcac cttcaccatg 180

gggtggttcc gtcaggctcc aggggaaggag cgtgagtttg tagcagctat tagtttgagt 240

cctactttag catattatgc agagtccgtg aagggccgat tcaccatcag ccgagacaac 300

gccaagaaca cggtaggtttt gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggacac ggccctttat 360

tactgtgcag cagaccggaa atcagtaatg tctattcggc ccgactactg gggccagggg 420

accaggtea ccgtctctc aactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 480

gcgcccacca tcgcgtcgca gccctgtcc ctgcgccag aggcgtgccg gccagcggcg 540

gggggagcag tgcacacgag ggggctggac ttcgcctgtg atttttgggt gctggtggtg 600

gttgggtggag tcttggttg ctatagcttg ctagtaacag tggcctttat tattttctgg 660

gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc 720

cccgggcccc cccgcaagca ttaccagccc tatgccccac cagcgcactt cgcagcctat 780

cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatatcca aacaaccatt tatgagacca 840

gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 900

ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc 960

cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 1020

aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 1080

ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1140

aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1200

accaaggaca cctacgacgc cttcacatg caggccctgc cccctcgctg a 1251

<210> 178

<211> 1257

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37355 CAR

<400> 178

atggccttac cagtaccgc cttgtcctcg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcc gtgcagctgg tggattctgg gggaggcttg 120
 gtgcagcctg ggggtctct gagactctcc tgtgtagcct ctggaggtat cttcgtcatc 180
 aatgccatgg gctggtaccg ccaggtcca ggaagcagc gcgagttgt cgcattatt 240

 cgtggactag gcagaacaaa ctatgacgac tccgtgaagg gccgattcac catctccaga 300
 gacaacgcca acaacacggt gtatctgcag atgaacagcc tggaaactga ggacacggcc 360
 gtctactact gtacagtcta cgttacacta cttggtgggg ttaataggga ctactggggc 420
 caggggaccc aggtcacctg ctctcaact agtaccagca cgccagcgcc gcgaccacca 480
 acaccggcgc ccaccatcgc gtgcagccc ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca 540
 gcggcggggg gcgcagtga cagcaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
 gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
 ttctgggtga ggagtaagag gagcaggtc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720

 cgccgccccg ggccacccg caagcattac cagccctatg cccaccacg cgacttcga 780
 gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatttatg 840
 agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
 gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgccc cgcgtacaag 960
 cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
 ttggacaaga gacgtggcgg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
 caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1140
 gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggggtctcagt 1200

 acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgctga 1257

<210> 179

<211> 1254

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37915 CAR

<400> 179

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg ggggctctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacggac cttcagtagc 180
attgtcatgg gctggttccg ccaggtcca gggaaggagc gtgagtttgt aggagcgatt 240
atgtggaatg atggtattac atacttgcaa gactccgtga agggccgatt taccatcttc 300

agagacaatg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaact tgaggatacg 360
gccgtttatt actgtgcagc atccaagggt agatactcgg aatatgagta ctggggccag 420
gggaccagg tcaccgtctc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgctc gcagccctg tcctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcttggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccaccgcaa gcattaccag ccctatgcc caccacgca cttcgcagcc 780

tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttcaga agaagaaga 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgagc acgccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210> 180

<211> 1281

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37936 CAR

<400> 180

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg 120
gtgcaggctg gggggtctct gacagtctcc tgtacagcct ctggattcac tttcgaccgt 180

gctgtcatag tctggttccg ccaggccccc gggaagggcc gtgagggggt ctcatttatt 240
 aaacctagt atggcaccat atactacatt gactccctga agggccgatt cacgatctcc 300
 agtgacatcg ccaagaatac ggtatatctg caaatgaaaa gtctggaatc ggaggactcg 360

gccgtttatt acigtgcggc ctgcctgag gactggtaca cggattggat cgactggagt 420
 atatatcgtt ggcagcactg gggccagggg acccaggtca ctgtctctc aactagtacc 480
 acgacgccag cgcgcgacc accaaccacc gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 540
 ctgcgccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgag tgacacagag ggggctggac 600
 ttgcctgtg attttgggt gctggtggtg gttggtggag tcttgcttg ctatagcttg 660
 ctagtaacag tggcctttat tattttctgg gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac 720
 agtgactaca tgaacatgac tccccgccg cccgggcca cccgaagca ttaccagccc 780
 tatgccccac cagcgcactt cgcgcctat cgtccaaac ggggcagaaa gaaactcctg 840

tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 900
 agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg 960
 agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1020
 ggacgaagag aggagtacga tgttttgac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1080
 ggaaagccga gaaggaagaa cctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1140
 atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1200
 gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc cttcacatg 1260
 caggccctgc cccctcgtg a 1281

<210> 181

<211> 1254

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37953 CAR

<400> 181

atggccttac cagtaccgc cttgtctctg ccgttgccct tgctgtcca cgcgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggaatg 120
 gtgcaggctg gggactctct gagactatcc tgtgtgcagt ctacttacac cgtcaatagc 180
 gatgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtttgt aggagcgatt 240
 atgtggaatg atggtattac atacttgaa gactccgtga agggccgatt taccatcttc 300

agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaact tgaggatacg 360

gccgtttatt actgtgcagc atccaagggt agatactcgg aatatgagta ctggggccag 420

gggacccagg tcaccgtctc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480

ccggcgccca ccatcgctc gcagccctg tcctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540

gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600

gtggttggtg gagtctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660

tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720

cgcgccggcg ccaccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgca cttcgcagcc 780

tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 840

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaaga 900

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtacaagcag 960

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg ggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 1080

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210

> 182

<211> 1257

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37965 CAR

<400> 182

atggccttac cagtaccgc cttgtctctg ccgtggcct tgtgtctcca cgccgccagg 60

ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcg gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120

gtgcaggctg gggactctct gagactctcc tgtacagcct ctggtgcaac cttgactaac 180

gatcacatgg catggttccg ccaggctcca gggaaggggc gtgaatttgt agcagctatt 240

gactggagtg gtcgtaccac aaattacgca gaccccgtag agggccgatt caccatctcc 300

agaaacaacg ccaagaacac ggtgtatctg gaaatgaaca gcctgaaact tgaggacacg 360

gccgtttatt actgtgcggt cctccgcgt tggatctcat atgacaatga ctactggggc 420

caggggaccc aggtcacctg ctctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480

acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca 540
 gcggcggggg gcgcagtga cagcaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
 gtggtggttg gtggagtccg ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
 ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
 cgccgccccg ggcccaccg caagcattac cagccctatg cccaccacg cgacttcgca 780
 gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatttatg 840

agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaaga 900
 gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
 cagggccaga accagctcta taacagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
 ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
 caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1140
 gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1200
 acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgctga 1257

<210

> 183

<211> 1257

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37972 CAR

<400> 183

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgtc catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
 gtgcaggctg ggggctctc gagactctcc tgtgcagcct ctggaggcac cttaaagtaa 180
 aatacctgg cttggttccg ccagctcca gggaaggagc gtgggtttgt agcgtctatt 240
 acctgggatg gtcgtacgac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
 agagacaacg ccaagaacac agtgtatctg caaatgaaca gcctgaaacc tgaggatacg 360

gccgtttatg tctgtcaga cttagggaat tggcctgcgg gcccgcgga ctactggggc 420
 caggggaccc aggtcacct ctcctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
 acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca 540
 gcggcggggg gcgcagtga cagcaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
 gtggtggttg gtggagtccg ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
 ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720

cgccgccccg ggcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatttatg 840

agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagtgc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggggtctcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg cctgcccc tcgctga 1257

<210

> 184

<211> 1254

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37353 CAR

<400> 184

atggccttac cagtaccgc cttgtctctg ccgtggcct tctgtctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg ggcggctctt gagactctcc tgtgcagcct ctgaacacac cttcagtagc 180
catgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtctgt tgcagttatt 240
ggctggagag atattagcac aagctatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaagac gctgtatctg caaatgaata gcctgaaacc tgaggacacg 360

gccgtttact actgtgcagc acgtcggatc gacgcagctg actttgattc ctgggggcag 420
gggacccagg tcaccgtctc ctgcactagt accacgacgc cagcgccgag accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgctc gcagccctg tcctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
tggttgggtg gactcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccaccgcaa gcattaccag ccctatgcc caccacgca cttcgagcc 780
tatcgtcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 840

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900

ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210

> 185

<211> 1254

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMA 269A37948 CAR

<400> 185

atggccttac cagtaccgc cttgctcctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcg gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactcacc tgtacagcct ctggacgcgc cttcagtacc 180
tatttcatgg cctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtttgt agcaggaatt 240
gcatggagtg gtggtagcac ggcgtatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaatc tgaggacacg 360

gccgtttatt actgtgccag cagggggatt gaggtcgaag agtttgggtc ctggggccag 420
gggaccagg tcaccgtctc tgcactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccacgcgtc gcagccctg tcctgcgc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctgggt 600
gtggttgggt gagtctgcgc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga 840

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210

> 186

<211> 1236

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37333 CAR

<400> 186

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg atgtgcagct ggtggagtct gggggaggct tggtcagacc tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgtagc ctctggattg accttcagta gctaccccat gatgtgggtc 180
cgccaggctc caggaaaggg gctcgagtgg gtctcacgta ttagcgatag tggtggttac 240
acaaactatg acgactccgt gaagggccga ttcacatct ccagagacaa cgccaagaac 300
acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaca cctgaggaca cggccgtgta ttactgtaga 360

atcctggggg tgcccaccac gggccagggg acccaggtca ccgtctctc aacgcgtcgc 420
atgcatacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 480
tcgcagcccc tgtccctgcg ccagaggcgg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 540
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatttt tgggtgctgg tgggtggttg tggagtcttg 600
gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc tttattatct tctgggtgag gagtaagagg 660
agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac atgactcccc gccgccccgg gccacccgcg 720
aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgcag cctatcgctc caaacggggc 780
agaaagaaac tcctgtatat attcaacaaa ccatttatga gaccagtaca aactactcaa 840

gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga 900
gtgaagtcca gcaggagcgc agacccccc gcgtacaagc agggccagaa ccagctctat 960
aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagag acgtggcccg 1020
gacctgaga tggggggaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa 1080
ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg 1140
aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac 1200
gagcccttc acatgcagc cctgccccct cgtga 1236

<210

> 187

<211> 1272

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37336 CAR

<400> 187

```

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggagtct gggggaggcc tgggtcagcc tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagta gcaactggat gtattgggtc 180
cgtcaggctc caggggaagg gctcgagtgg gtcgcaacta ttagtactga tggctgtgga 240
acatactata aagactctgt gaagggccga ttcaccgtct ccagagacaa cgccatgagt 300
acgtctcttc tgcaaatgaa caatctgaaa tctgaagata cgcccggtga ttattgtgca 360

aaagagccga ggggtgtgat ggcttacctg cggaacctgg gtgactttgg ttcctggggc 420
caggggaccc aggtcacctg ctctcgacg cgtcgcatgc atactagtac cagcagcca 480
gcgccgcgac caccaacacc ggcccccacc atcgctgcgc agccctgtc cctgcgcca 540
gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca gtgcacacga gggggctgga ctgcgctgt 600
gatttttggg tgctggtggt ggttgggtgga gtcttggtt gctatagctt gctagtaaca 660
gtggccttta ttatttctg ggtgaggagt aagaggagca ggctcctgca cagtgactac 720
atgaacatga ctccccgccc ccccgggccc acccgcaagc attaccagcc ctatgcccc 780
ccacgcgact tcgcagccta tcgctccaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 840

aaacaacat ttatgagacc agtacaaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 900
tttcagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 960
gccccgcgt acaagcaggc ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1020
gaggagtacg atgttttggg caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1080
agaaggaaga accctcagga aggctgttac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1140
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1200
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1260
ccccctcgt ga 1272

```

<210> 188

<211> 1239

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37669 CAR

<400> 188

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggct tggtagcaggc tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggaagg atcttcagta tcaatgcat gggctggtac 180
cgccaggctc caggaagca gcgcgagttg gtgcgcgcta ttagtacggc tggtagcaca 240
aactatggag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacacg 300
gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag ctgtttatta ctgtaattta 360

aattttccc cgatgtgta ctggggccag gggaccaggc tcaccgtctc ctcaacgcgt 420
cgcatgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc 480
gcgtgcagc cctgtcctt gcgccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 540
cacacgaggg ggctggactt gcctgtgat ttttgggtgc tgggtggtgt tggtagcaca 600
ctggcttgc atagcttgc agtaacagt gcctttatta ttttctgggt gaggagtaag 660
aggagcaggc tctgcacag tgactacatg aacatgactc cccgccgcc cgcccccacc 720
cgcaagcatt accagcccta tgccccacca cgcgacttcg cagcctatcg ctccaaacgg 780
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 840

caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 900
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggccca gaaccagctc 960
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 1020
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctgaggaagg cctgtacaat 1080
gaactgcaga aagataagat ggccgaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1200
tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc cctcgtga 1239

<210>

> 189

<211> 1251

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37331 CAR

<400> 189

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60

ccggttaacc aggtaaagct ggaggagtct gggggaggtc tgggtcagcc tggggagtct 120
ctgagactct cctgttcagc ctctggaagc atcttcaaag ttttcagagt ctttgccatg 180
agctggtacc gccagggtcc cgggaaacag cgcgagtgg tcgcatccat tagtagtggc 240
gagaccacaa cctatgcaga ctccgtgaag ggccgattca ccatctccag agacaacgcc 300
aagaatacgg cgtatctgca aatggacagc ctgaaacctg aggacacggc cgtctattac 360

tgtaatgagg atcacacctt tacaggagac ttctggggcc aggggaccca ggtcacccgc 420
tcctcaacgc gtgcgatgca tactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 480
gcgcccacca tcgcgtcgca gccctgtcc ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg 540
gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac ttgcctgtg atttttgggt gctggtgggt 600
gttgggtggag tcctggcttg ctatagcttg ctagtaacag tggcctttat tattttctgg 660
gtgaggagta agaggagcag gtcctgcac agtgactaca tgaacatgac tccccccgcg 720
cccgggcccc cccgcaagca ttaccagccc tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat 780
cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatatcca aacaaccatt tatgagacca 840

gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 900
ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc 960
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 1020
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 1080
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1140
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1200
accaaggaca cctacgacgc ctttcacatg caggccctgc cccctcgctg a 1251

<210

> 190

<211> 1242

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37717 CAR

<400> 190

atggccttac cagtgaccgc cttgtctctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggaaagc ggggggggac tgggtcagcc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgttttagca tctacgacat gggctggtat 180
aggcaggcac caggaaagca gagggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccgggtt accatcagca gagacaacgc caagaatata 300

gtgtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgccgggct 360

aatcacgtct tggcggctc ctactggggg cagggaactc aggtcactgt gtcattccacg 420

cgctcgatgc atactagtac cagcagcca gcgcgcgac caccaacacc ggcgcccacc 480

atcgctcgc agccctgtc cctgcgcca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 540

gtgcacacga gggggctgga cttcgctgt gatttttggg tgctggtggt ggttggtgga 600

gtcctggctt gctatagctt gctagtaaca gtggccttta ttattttctg ggtgaggagt 660

aagaggagca ggctcctgca cagtactac atgaacatga ctccccgcg ccccgggccc 720

acccgaagc attaccagc ctatgcccc ccacgcgact tcgcagccta tcgtccaaa 780

cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaacat ttatgagacc agtacaaact 840

actcaagagg aagatggctg tagctgccga ttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 900

ctgagagtga agttcagcag gagcgagac gccccgcgt acaagcagg ccagaaccag 960

ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 1020

ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1080

aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1140

cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtlacgc caccaaggac 1200

acctacgacg cccttcacat gcaggccctg cccctcgt ga 1242

<210

> 191

<211> 1239

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37719 CAR

<400> 191

atggccttac cagtaccgc cttgtctctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60

ccggttaacc aggtaaagct ggaggagtct gggggaggct cggtgcagac tggggggtct 120

ctgagactct cctgtgcagc ctctgcaagc atcttacta ggctgcccac gggtggttac 180

cgccaggctc cagggaagca gcgcgagttg gtcgtaggca ttgttctag tggtaggata 240

aactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacacg 300

gtgtatctgc aaatgaacag cctgcgcctt gaggacacag ccgtctatta ctgccgcgc 360

gatacttcc ctttgcacc ctggggccag gggaccagg tcaccgtctc ctcaacgcgt 420

cgcatgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc 480

gcgtcgagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgagtg 540
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat ttttgggtgc tgggtggtgt tgggtgagtc 600
ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg gcctttatta ttttctgggt gaggagtaag 660
aggagcaggg tcctgcacag tgactacatg aacatgactc cccgccgccc cgggcccacc 720
cgcaagcatt accagcccta tgccccacca cgcgacttcg cagcctatcg ctccaaacgg 780
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 840

caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 900
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcaggggcca gaaccagctc 960
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc 1020
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctgaggaagg cctgtacaat 1080
gaactgcaga aagataagat ggcgaggagg tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1200
tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc cctcgtga 1239

<210

> 192

<211> 1272

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37330 CAR

<400> 192

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgctcca ccccaccagg 60
ccggttaacc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggat tgggtcaggc tggggactct 120
ctgagactct ccgtgcagc ctctggacgc gcctacgcta cgatggcctg gttccgccag 180
gtccaggga aggagcgtga gttttagca catctgcgcg tgagtgggtga taccacttac 240
tatacagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgcaa gaacacggcg 300
tatctgcaaa tgaacatgtt gaaacctgag gacacggccg tttattactg tgcagcgga 360

ccgtatggca ttcttgccgc tgccagggtc agtaatccag gaaattatga ttattggggc 420
caggggaccc aggtcacctg ctctcaacg cgtcgcatgc atactagtag cacgacgcca 480
gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgcca 540
gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt 600
gatttttggg tgctggtggt ggttgggtga gtcctggctt gctatagctt gctagtaaca 660
gtggccttta ttattttctg ggtgaggagt aagaggagca ggctcctgca cagtgactac 720

atgaacatga ctccccgcgc ccccgggccc acccgcaagc attaccagcc ctatgcccc 780
ccacgcgact tcgcagccta tcgctccaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 840

aaacaacat ttatgagacc agtacaaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 900
tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgagac 960
gccccgcgt acaagcaggc ccagaaccag ctctataacg agtcaatct aggacgaaga 1020
gaggagtacg atgttttga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1080
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1140
gcctacagt agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1200
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg ccttcacat gcaggccctg 1260
ccccctcgct ga 1272

<210> 193

<211> 1263

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37334 CAR

<400> 193

atggccttac cagtgaccgc cttgtctctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggagtct gggggaggat tggcgcagc tgggggctct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggactc accttcagta gttatattat gggtggttc 180
cgccaggctc caggcgagga gcgcgagttg gtcgcgaaa ttagtagcgg tggtagaca 240
tcgtatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaagacg 300
gggtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacgg ccgtttacta ttgtgcagc 360

cctgagaggg gtagtatctg gtacagccgc tacgaatata agtactgggg ccaggggacc 420
caggtcacgc tctcctcaac gcgtcgcatg catactagta ccacgacgc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgccac catcgctcg cagcccctgt cctgcgccc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cggggggcgc agtgacacg agggggctgg acttcgctg tgatttttgg 600
gtgctggtgg tgggtgggtg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt 660
attattttct gggtagagg taagaggagc aggcctctgc acagtgacta catgaacatg 720
actccccgc gccccgggccc caccgcaag cattaccagc cctatgcccc accacgcgac 780
ttcgcagcct atcgctccaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 840

tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 900
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgtcccccgcg 960
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1080
aaccttcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1140
gagattggga tgaagagcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200
ctcagtlacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1260
tga 1263

<210> 194

<211> 1254

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37730 CAR

<400> 194

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgtcca cgtccgcagg 60
ccgttaacg ccgtgcagt ggtggattct gggggaggct tggcgagac tgggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctcaagg atcttacta tcaatgcat gggctgttac 180
cgccaggttc cagggaagca gcgggagttg gtgcagaag ttagtagtg tggccgcaca 240
gactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacacg 300
gtgtacctgc aaatgaacg cctgaaacct gaggacacag gcgtctatta ttgtcgagtt 360

tctggatggc atgtgtttgt cggtagaccg atagtttgg gccagggcac cctggtcact 420
gtctctcaa cgcgtcgat gcatactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgctg gcagccctg tcctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgattttt ggtgctggtg 600
tggtttggtg gagtccctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccaccgcaa gcattaccag ccctatgcc caccacgca cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840

ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc ttagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210

> 195

<211> 1263

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37340 CAR

<400> 195

atggccttac cagtgcacgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg atgtgcagct ggtggagtct gggggaggat tggcgcaggc tggggactct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggacgc accttcagta gctatgcat ggcttggttc 180
cgccaggctc caggaagga gcgtgagatt gtttcgtcta tcagtaccag tgggtgtatc 240
acagactatg cagactccgt gaagggccga ttaccatct ccaaagacag cgcgaagatg 300
aacacggtgt atctgcaaat gaatagccta gaacctgagg acacggccgt ttactactgt 360

gcggcccgta catggtacct tcgtacttct ctccaatatg actattgggg ccaggggacc 420
caggtcaccg tctcctcaac gcgtcgcagc catactagta ccacgacgcc agcgccgcga 480
ccaccaaac cggcgccac catcgcgtcg cagccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cggggggcgc agtgcacag agggggctgg acttcgcctg tgatttttgg 600
gtgctggtgg tggttggtgg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt 660
attattttct ggggtgaggag taagaggagc aggcctcctgc acagtgacta catgaacatg 720
actccccgc gccccgggcc caccgcaag cattaccagc cctatgccc accacgcgac 780
ttcgcagcct atcgtccaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 840

tttatgagac caglacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttcagaa 900
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgaga cgccccgcg 960
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1080
aacctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1140
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctgc 1260

tga

1263

<210> 196

<211> 1257

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37731 CAR

<400> 196

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtaaagct ggaggagtct gggggaggct tggcgcaggc tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgtagc ctctggaacc atcgtcagta tcagtaccat gggttggtac 180
cgccaggctc cagggaagca gcgcgagttg gtcgcgacta taaccaggcg tggacgcacg 240
aactatacag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caaaaacacg 300
gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag ccgtctatta ctgtaatgca 360

gaggtgcaac tggatatatg ggcatctgcg tatgactact ggggccaggg gaccaggtc 420
accgtcgct caacgcgtcg catgcatact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca 540
gcggcggggg gcgcagtgca cagcggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccaccgc caagcattac cagccctatg cccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatttatg 840

agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaaga 900
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagtgc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggacctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggcttcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgctga 1257

<210

> 197

<211> 1239

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38 38A37326 CAR

<400> 197

atggccttac cagtgaccgc cttgtctctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggagtct gggggaggat tggcgcaggc tgggggctct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggacgc acctatgcc a tgggttggtg tgcgcaggct 180
ccagggaagc agcgcgactt ggtcgcaact attagtgggtg cgggtaacac aaagtatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac aatgtatctg 300
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccgtttatt actgtgccgc gggtaaatgg 360

ttccctgctg cgaatgagta ctggggccag gggaccaggc tcaccgtctc ctcaacgcgt 420
cgcatgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc 480
gcgtcgagc cctgtccct gcgccagag gcgtgccggc cagcggcgagg gggcgagtg 540
cacacgaggg ggctggactt cgctgtgat ttttgggtgc tgggtgggtg tgggtggagtc 600
ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg gcctttatta ttttctgggt gaggagtaag 660
aggagcaggc tctgcacag tgactacatg aacatgactc cccgccgcc cgggccacc 720
cgcaagcatt accagcccta tgccccacca cgcgacttcg cagcctatcg ctccaacgg 780
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 840

caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 900
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc ccgcgtaca agcagggcc gaaccagctc 960
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttgacaa gagacgtggc 1020
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctgaggaagg cctgtacaat 1080
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacgccac caaggacacc 1200
tacgacgcc ttacatgca ggccctgccc cctcgctga 1239

<210

> 198

<211> 495

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAx2 269A37946 GSI5014 CAR

<400> 198

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 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
35 40 45

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

Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

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

Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
115 120 125

Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr
165 170 175

Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
180 185 190

Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
195 200 205

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
210 215 220

Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240

Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp
245 250 255

Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
260 265 270

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
275 280 285

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
290 295 300

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
305 310 315 320

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
325 330 335

Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
340 345 350

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
355 360 365

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
370 375 380

Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
385 390 395 400

Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
405 410 415

Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
420 425 430

Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
435 440 445

Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
450 455 460

Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
465 470 475 480

Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

490

495

<210> 199

<211> 622

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAx3 269A37946 GSI5015 CAR

<400> 199

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 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe

35 40 45

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

50 55 60

Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

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

115 120 125

Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu

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

 Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp
 245 250 255
 Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 260 265 270
 Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 275 280 285
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu
 290 295 300

 Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
 305 310 315 320
 Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
 325 330 335
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys
 340 345 350
 Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala
 355 360 365

 Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr
 370 375 380
 Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
 385 390 395 400
 Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
 405 410 415
 Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
 420 425 430

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
435 440 445

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
450 455 460

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
465 470 475 480

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
485 490 495

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
500 505 510

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
515 520 525

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
530 535 540

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
545 550 555 560

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
565 570 575

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
580 585 590

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
595 600 605

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615 620

<210> 200

<211> 483

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38x2 38A37717 GSI5016 CAR

<400> 200

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu

1	5	10	15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu			
	20	25	30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys			
	35	40	45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys			
	50	55	60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr			
65	70	75	80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys			
	85	90	95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala			
	100	105	110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly			
	115	120	125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val			
	130	135	140
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu			
145	150	155	160
Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met			
	165	170	175
Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu			
	180	185	190
Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg			
	195	200	205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met			
	210	215	220
Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn			
225	230	235	240
His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val			
	245	250	255

Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
260 265 270

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
275 280 285

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
290 295 300

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
305 310 315 320

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
325 330 335

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
340 345 350

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
355 360 365

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
370 375 380

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
385 390 395 400

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
405 410 415

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
420 425 430

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
435 440 445

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
450 455 460

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
465 470 475 480

Pro Pro Arg

<210> 201

<211> 604

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38x3 38A37717 GSI5017 CAR

<400> 201

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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys

35 40 45

Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala

100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly

115 120 125

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val

130 135 140

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu

145 150 155 160

Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met

165 170 175

Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu

180 185 190

Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg

195 200 205

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

 Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 260 265 270
 Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr
 275 280 285
 Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
 290 295 300
 Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr
 305 310 315 320

 His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 325 330 335
 Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp
 340 345 350
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
 355 360 365
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
 370 375 380

 Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
 385 390 395 400
 Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 405 410 415
 His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
 420 425 430
 Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
 435 440 445

 Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro

450 455 460
 Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
 465 470 475 480
 Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
 485 490 495
 Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 500 505 510

 Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 515 520 525
 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 530 535 540
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 545 550 555 560
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 565 570 575

 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 580 585 590
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 595 600

<210> 202

<211> 1488

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAX2 269A37946 GSI5014 CAR

<400> 202

atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccttgctc tgctgctgca cgtgctcgc 60
 cctcaggtec agctggtgga aagcggagga ggctggtgc agccaggagg cagcctgagg 120
 ctgtcctgcg aggcctctgg cttcacctg gactactatg ccatcggtg gtttaggcag 180

 gcacctggaa aggagagga gggagtgatc tgtatctctc gcagcgacgg cagcacatac 240
 tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgcaa gaagacagtg 300
 tacctgcaga tgatctcct gaagcctgag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360

gcagactgta gcggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccagggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg ctcccagggtg cagctgggtg agtctggagg cggcctgggtg 480
cagcctggag gcagcctgag actgagctgt gaagcttccg gatttacct ggactactat 540
gcaatcggat ggtttaggca ggcaccagga aaggagagag aaggcgtgat ctgtatctcc 600
agatctgacg gctctacata ctatgccgat agtgtcaaag gacggttcac catctctaga 660

gataatgcc aagaagacagt ctatctgcag atgattagcc tgaagcccga ggacacagcc 720
gcctattact gcgcagcagg agcagattgt agtgggtatc tgagggacta tgagtctcgg 780
gggcagggga cacaggtgac agtgagttct actagtacca cgacgccagc gccgcgacca 840
ccaacaccgg cgcccacat cgctctgcag cccctgtccc tgcgccaga ggcgtgccgg 900
ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg ggcctggact tcgcctgtga tatctacatc 960
tgggcgccct tggccgggac ttgtggggtc cttctcctgt cactggttat caccctttac 1020
tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gagaccagta 1080
caactactc aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 1140

tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgctacca gcagggccag 1200
aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt ttggacaag 1260
agacgtggcc gggaccctga gatgggggga aagccgagaa ggaagaacct tcaggaaggc 1320
ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa 1380
ggcagcgcgc ggaggggcaa ggggcacgat ggcctttacc aggtctctag tacagccacc 1440
aaggacacct acgacgccct tcacatgcag gccctgcccc ctgcgtaa 1488

<210> 203

<211> 1869

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> BCMAx3 269A37946 GSI5015 CAR

<400> 203

atggctctgc ccgtcactgc tctgtctgtg cctctggccc tgctgtctga cgcgcacgc 60
cctcaggctc agctggctga gtcaggagga ggcctgggtc agccaggagg ctccctgcgg 120
ctgtcttgcg aggccagcgg cttcaccttg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgtat tgtatctcca gatctgacgg ctccacatac 240
tatgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atctctagag acaacgcaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagcct gaagcccag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360

gcagactgtt ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420

gtgagctccg gaggaggagg ctcccagggtg cagctggtgg agtctggagg cggcctggtg 480
cagcctggag gctccctgag gctgtcttgc gaggcaagcg gcttcaccct ggattactat 540
gcaatcggat ggtttaggca ggcaccagga aaggagagag aaggcgtgat ctgtatcagc 600
cgctccgacg gcagtaccta ctatgccgat tccgtcaaag gccggttcac catctccaga 660
gacaatgcc aagaacagct ctatctgcag atgatctctc tgaagcctga ggatacagcc 720
gcctattact gtgccgcagg agcagactgt agtggctatc tgagagatta tgagtctcgc 780
ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc ggaggaggag gcagccaggt ccagctggtg 840
gaatccggcg gaggcctggt gcagcccggc ggctccctga gactgtcctg tgaagcctcc 900

ggatttactc tggattatta cgctattgga tggttcagac agggccctgg caaagaaaga 960
gaaggggtga tctgtatctc tcggagcgac ggctctacat actatgccga tagcgtcaag 1020
ggaagattta ccatctccag agataatgcc aagaagacag tgtatctgca gatgatttcc 1080
ctgaagcccg aggacactgc cgcctattac tgtgcagcag gagcagattg tagcgggtat 1140
ctgcgggatt atgaatttag aggacagggc actcaggtga cagtctcaag cactagtacc 1200
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 1260
ctgcgccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac 1320
ttgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccggga cttgtgggt ctttctctg 1380

tacttggtta tcaccttta ctgcaaagg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaa 1440
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggtgttag ctgccgattt 1500
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 1560
ccgcgtacc agcagggccga gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 1620
gagtacgatg ttttgacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 1680
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggccgaggcc 1740
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1800
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1860

cctcgctaa 1869

<210> 204

<211> 1452

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38x2 38A37717 GSI5016 CAR

<400> 204

atggccctgc ctgtcaccgc tctgtctgtg cctctggccc tgctgtgtga cgctgtctaga 60
 cccgaagtcc agctgggtcga aagtggggga ggcctgggtgc aggaggagg cagcctgagg 120
 ctgtctgtga tgcaccaccg caaggtgttc agcatctacg acatgggatg gtataggcag 180
 gcaccaggaa agcagagaga gctgtgtggc gagatcaca gctccggcac cacacactac 240
 gacgatttcg tgcggggcgg gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300

ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgccg ggccaatcac 360
 gtgttcggag gatcctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggaggga 420
 ggatctgagg tgcagctggt ggagagcggg ggcggcctgg tgcaggccgg aggtctctctg 480
 agactgagct gtattgtctc cggcaaggtg ttttctatct acgatatggg ctggtatagg 540
 caggcacctg gaaagcagag ggagctggtg gctgaaatca cctcctctgg aactacccat 600
 tacgacgatt tctgagcgg caggtttacc atctcccgcg ataagtctaa aaacaccgtc 660
 tacttgacga tgaatactct gaaagctgaa gacacagccg tgtactattg tggggctaac 720
 catgtcttcg ggggctccta ttgggggcag ggaactcagg tcaccgtgtc atcaactagt 780

accacgacgc cagcggcgcg accaccaaca cgggcgccc ccatcgctgc gcagcccctg 840
 tccctgcgcc cagaggcgtg cgggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 900
 gacttcgct gtgatatcta catctggcg cccttggcg ggacttgtgg ggtccttctc 960
 ctgtcactgg ttatcacctt ttactgcaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 1020
 aaacaacat ttatgagacc agtacaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 1080
 tttccagaag aagaagaagg aggtgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 1140
 gccccgcgt accagcagg ccagaaccag ctctataacg agtcaatct aggacgaaga 1200
 gaggagtacg atgttttga caagagacgt ggcggggacc ctgagatggg gggaaagccg 1260

agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1320
 gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggagg gcaaggggca cgatggcctt 1380
 taccagggtc tcatgacgc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1440
 cccctcgt aa 1452

<210> 205

<211> 1815

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38x3 38A37717 GSI5017 CAR

<400> 205

atggctctgc ctgtaccgc actgtctgtg cccctggccc tgctgtgtga cgccgcaaga 60
cctgaagtc agctggtcga atccggagga ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgcgg 120

ctgtcttgca tgcaccgg caaggtgttc agcatctacg acatgggctg gtataggcag 180
gcaccaggaa agcagaggga gctggtggcc gagatcaca gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgtccggccg gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acacctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgccg ggccaatcac 360
gtgttcggag gatcttactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatccgagg tgcagctggt ggagtcctga ggcggcctgg tgcaggccgg aggcagcctg 480
agactgtcct gtattgtac cgccaaggtg ttttccatct acgatatggg ctggtatcgg 540
caggccctg gcaagcagag agagctggtg gctgaaatca catcctctgg aactacccat 600

tacgacgatt tcgtgagcgg caggtttacc atctcccgcg ataatgctaa aaacaccgtc 660
tacctgcaga tgaatactct gaaagctgaa gacaccgtg tgtactattg cagagctaac 720
catgtgttcg gaggaagcta ttggggccag ggcactcagg tgacagttag ctccggcggc 780
ggcggcagtg aagtgcagct ggtggagtcc ggagggggcc tgggtgcaggc cggcggctct 840
ctgcgcctga gctgtattgc aactggaaaa gtgttttcca tttatgatat gggatggtac 900
agacaggccc ctgggaaaca gagagagctg gtggcagaaa tcacctctag tggaaactacc 960
cactatgatg atttcgtgtc tggccgggtt accatcagca gggataatgc taaaaaact 1020
gtctacctgc agatgaacac tctgaaagct gaagataccg ccgtgtacta ttgtagggt 1080

aacctgtct ttggggggtc atactggggg caggggactc aggtcacctg ctcatccact 1140
agtaccaga cgccagcgc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatgc gtcgcagccc 1200
ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtga cagagggggg 1260
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1320
ctcctgtcac tggttatcac ctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1380
ttcaaacac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1440
cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1500
gacgccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1560

agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1620
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1680
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1740

ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1800
ctgccccctc gctaa 1815

<210> 206

<211> 502

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19XCD20 single-domain antibody-based bispecific CAR

<400> 206

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

180 185 190
Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Arg Trp Ser

195 200 205
Thr Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile

210 215 220
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Leu Thr Val Asp Leu Gln Met Asp Ser Leu

225 230 235 240
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Leu Ser

245 250 255
Leu Asp Leu Ser Gly Arg Tyr His Tyr Asn Pro Ala Val Tyr Asp Tyr

260 265 270
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr

275 280 285
Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His

290 295 300
Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser

305 310 315 320
Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr

325 330 335
Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

340 345 350
Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

355 360 365
Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

370 375 380
Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

385 390 395 400
Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

405 410 415
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

420 425 430

Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
435 440 445
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
450 455 460
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
465 470 475 480
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
485 490 495
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500
<210> 207
<211> 489
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5001 CAR
<400> 207
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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
35 40 45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65 70 75 80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
85 90 95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly

115 120 125
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
 130 135 140
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
 145 150 155 160
 Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile
 165 170 175
 Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys
 180 185 190

 Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 195 200 205
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln
 210 215 220
 Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln
 245 250 255

 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
 260 265 270
 Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
 275 280 285
 Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
 290 295 300
 Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
 305 310 315 320

 Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
 325 330 335
 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
 340 345 350
 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 355 360 365

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
370 375 380

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
420 425 430

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
435 440 445

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 208

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5002 CAR

<400> 208

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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys

35 40 45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala

100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly

115 120 125

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg

180 185 190

Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser

275 280 285

Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly

290 295 300

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp

305 310 315 320

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

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val

405 410 415

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

420 425 430

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

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

450 455 460

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485 490

<210> 209

<211> 500
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5003 CAR
<400> 209

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

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

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

 195 200 205
 Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 210 215 220
 Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys
 225 230 235 240
 Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser
 245 250 255

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

260 265 270

Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro

275 280 285

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys

290 295 300

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala

305 310 315 320

Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu

325 330 335

Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys

340 345 350

Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr

355 360 365

Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly

370 375 380

Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

450 455 460

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

465 470 475 480

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

485 490 495

Leu Pro Pro Arg

500

<210> 210

<211> 508

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5004 CAR

<400> 210

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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys

35 40 45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr

65 70 75 80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys

85 90 95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala

100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly

115 120 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160
Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly

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

180 185 190

Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly

195 200 205

Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr

275 280 285

Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro

290 295 300

Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val

305 310 315 320

His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro

325 330 335

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

340 345 350

Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro

355 360 365

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys

370 375 380

Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe

385 390 395 400

Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu

405 410 415

Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp

420 425 430

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys

435 440 445
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala

450 455 460
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
465 470 475 480
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
485 490 495
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

500 505

<210> 211

<211> 518

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5005 CAR

<400> 211

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

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

115	120	125	
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
130	135	140	
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly			
145	150	155	160
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val			
165	170	175	
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser			
180	185	190	
Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe			
195	200	205	
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg			
210	215	220	
Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr			
225	230	235	240
Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser			
245	250	255	
Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp			
260	265	270	
Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln			
275	280	285	
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro			
290	295	300	
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu			
305	310	315	320
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp			
325	330	335	
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly			
340	345	350	
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg			
355	360	365	

Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
370 375 380

Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
385 390 395 400

Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
405 410 415

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
420 425 430

Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
435 440 445

Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
450 455 460

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
465 470 475 480

Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
485 490 495

Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
500 505 510

Gln Ala Leu Pro Pro Arg
515

<210> 212

<211> 489

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5006 CAR

<400> 212

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 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe

35 40 45

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

50 55 60

Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

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

115 120 125

Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

145 150 155 160

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val

165 170 175

Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln

180 185 190

Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp

195 200 205

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

210 215 220

Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val

225 230 235 240

Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln

245 250 255

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro

260 265 270

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu

275 280 285
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg

290 295 300
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305 310 315 320
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
325 330 335
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
340 345 350
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro

355 360 365
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
370 375 380
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln

420 425 430
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
435 440 445
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

<210> 213

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5007 CAR

<400> 213

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 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe

35 40 45

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

50 55 60

Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

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

115 120 125

Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

145 150 155 160

Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile

165 170 175

Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln

180 185 190

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

195 200 205

Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg

210 215 220

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala

225					230					235					240		
Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Arg	Ala	Asn	His	Val	Phe	Gly	Gly		
				245					250					255			
Ser	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr		
				260					265					270			
Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser		
				275					280					285			
Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly		
				290					295					300			
Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp		
				310					315					320			
Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile		
				325					330					335			
Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys		
				340					345					350			
Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys		
				355					360					365			
Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val		
				370					375					380			
Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn		
				385					390					395			400
Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val		
				405					410					415			
Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg		
				420					425					430			
Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys		
				435					440					445			
Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg		
				450					455					460			
Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys		
				465					470					475			480

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

490

<210> 214

<211> 500

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMaCD38 269A37346 38A37717 GSI5008 CAR

<400> 214

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 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20

25

30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe

35

40

45

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

50

55

60

Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr

65

70

75

80

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

85

90

95

Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100

105

110

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

115

120

125

Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly

130

135

140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu

145

150

155

160

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser

165

170

175

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

 Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala
 245 250 255
 Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 260 265 270
 Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 275 280 285
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 290 295 300

 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 305 310 315 320
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 325 330 335
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 340 345 350
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 355 360 365

 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 370 375 380
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 385 390 395 400
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 405 410 415
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

420 425 430

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

435 440 445

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

450 455 460

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

465 470 475 480

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

485 490 495

Leu Pro Pro Arg
500

<210> 215

<211> 510

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5009 CAR

<400> 215

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

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

100	105	110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg		
115	120	125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly		
130	135	140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser		
145	150	155
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly		
165	170	175
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr		
180	185	190
Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro		
195	200	205
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr		
210	215	220
His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn		
225	230	235
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp		
245	250	255
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr		
260	265	270
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Ser Thr		
275	280	285
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser		
290	295	300
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly		
305	310	315
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp		
325	330	335
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile		
340	345	350

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
355 360 365

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
370 375 380

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
385 390 395 400

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
405 410 415

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
420 425 430

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
435 440 445

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
450 455 460

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
465 470 475 480

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
485 490 495

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505 510

<210> 216

<211> 518

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5010 CAR

<400> 216

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 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
35 40 45

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

Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

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

Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
115 120 125

Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
165 170 175

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly
180 185 190

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile
195 200 205

Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu
210 215 220

Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val
225 230 235 240

Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
245 250 255

Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
260 265 270

Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln

275 280 285
 Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
 290 295 300
 Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
 305 310 315 320
 Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
 325 330 335
 Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
 340 345 350

 Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
 355 360 365
 Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
 370 375 380
 Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
 385 390 395 400
 Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
 405 410 415

 Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
 420 425 430
 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
 435 440 445
 Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
 450 455 460
 Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
 465 470 475 480

 Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
 485 490 495
 Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
 500 505 510
 Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 515

<210> 217

<211> 1521

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19XCD20 single-domain antibody-based bispecific CAR

<400> 217

gccgccacca tggccttacc agtgaccgcc ttgctcctgc cgctggcctt gctgctccac 60

gccgccaggc cgcaggtaaa gctggaggag tctgggggag aattgggtgca gcctgggggg 120

cctctgagac tctcctgtgc agcctcggga aacatcttca gtatcaatcg catgggctgg 180

taccgccagg ctccaggga gacgcgcgcg ttcgtcgcac ctattactgt tctgtgtata 240

acaaactatg cagactccgt gaagggccga ttcaccatit ctgtagacaa gtccaaaaac 300

acgatttata tgcagatgaa cgcactcaaa cctgaggaca cggccgtcta ttattgtaac 360

gcagtgtctt caaacaggga ccccgactac tggggccagg ggaccaggt caccgtctcc 420

tcaggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc ggcggcagcg gcggcggcag cccggtgcag 480

ctggtggagt ctgggggagg cttggtgcag gctggggatt ctctgagact ctctgtgct 540

gcctctggac gcaccttcgg tatttggtacc atgggctggt tccgccaacc tccagggaag 600

gagcgtgaat ttgtagcagc tattaggtgg agtactggtg gcactcgcta tgcagactcc 660

gtgaagggcc gattcaccat ctcccagac aacccaagc tcacggtaga tctgcaaatg 720

gacagcctga aacctgaaga caccggcgtt tattactgtg cagcagatag actgtccctt 780

gatttaagt gtcgttacca ctacaaccc gccgtgtatg actattgggg ccaggggacc 840

caggtcaccg tctcctcaat tgaagttatg tatectctc cttacctaga caatgagaag 900

agcaatggaa ccattatcca tgtgaaagg aaacaccttt gtccaagtcc cctatttccc 960

ggaccttcta agcccttttg ggtgctggtg gtggttggtg gattcctggc ttgctatagc 1020

ttgctagtaa cagtggcctt tattatitct tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg 1080

cacagtgact acatgaacat gactccccgc cggcccgagg ccaccgcaa gcattaccag 1140

ccctatgcc caccacgca cttcgagcc tatcgctcca gattgaagtt cagcaggagc 1200

gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag aaccagctct ataacagct caatctagga 1260

cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag agacgtggcc gggaccctga gatgggggga 1320

aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggc ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg 1380

gcggaggcct acagtgatg tgggatgaaa ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat 1440

ggcctttacc aggtgtctcag tacagccacc aaggacacct acgacgcct tcacatgcag 1500

gccctgcccc ctgctgata a 1521

<210> 218

<211> 1470

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5001 CAR

<400> 218

atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg ccctggctc tgctgctgca cgccgcaaga 60
cccgaagtcc agctggtgga atctggcgga ggctggtgc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtctctga tcgccaccgg caaggtgttc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcaca gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgtctggccg gtttaccatc agcagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300

ctgcagatga acacctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gaagctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggcagccagg tgcagctggt ggagtcgga ggaggcctgg tgcagccagg aggtctctg 480
aggctgagct gcgaggcatc cggattcacc ctggactact atgccatcgg ctggtttagg 540
caggcacctg gaaaggagag ggagggagtg atctgtatct ccagatctga cggtccaca 600
tactatgccg attctgtgaa gggcagggttc accatctctc gcgataacgc caagaagaca 660
gtctacctgc agatgatcag cctgaagccc gaggacaccg cagcatacta ttgcgcagca 720
ggagcagatt gtagtggcta tctgagggac tacgagttcc gagggcaggg gacacaggtg 780

accgtgagca gactagtagc cagcagcca gcgccgcgac caccaacacc ggcccccacc 840
atcgctgcgc agccccctgc cctgcgcca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 900
gtgcacagca gggggctgga cttcgctgt gatatttaca tctgggcgcc cttggccggg 960
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcaccttt actgcaaacg gggcagaaag 1020
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag taaaactac tcaagaggaa 1080
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1140
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgctac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1200
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg cggggaccct 1260

gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320

aaagataaga tggcggaggc ctacagttag attgggatga aaggcgagcg cgggaggggc 1380
aaggggcacg atggccttta ccaggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacagccc 1440
cttcacatgc aggcctgcc ccctcgctaa 1470

<210> 219

<211> 1485

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5002 CAR

<400> 219

atggctctgc ccgtcactgc tctgtctgtg cccttggtc tgctgtgca cgtgtctgc 60
cctgaagtcc agctggtcga atccggcgga ggcctggtgc aggcaggagg cagcctgagg 120

ctgtcctgca tgcaccagg caaggtgttc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcaca gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgtccggcgg gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acacctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
tgttttggag gatcctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatctggcg gaggaggcag ccaggtgcag ctggtggagt ctggaggagg cctgggtcag 480
ccaggaggct ctctgaggct gagctgcgag gcatccggat tcacctgga ctactatgcc 540
atcggtggt ttaggcaggc acctggaaag gagaggagg gagtgatctg tatctccaga 600

tctgacggca gcacatacta tgccgattcc gtgaaggga ggttcacat ctctcgcat 660
aacccaaga agacagtcta cctgcagatg atcagcctga agcccaggga caccgcagca 720
tactattgcg cagcaggagc agattgtagc ggctatctga gggattatga gtttagagg 780
cagggaacac aggtgacagt gagcagcact agtaccagca cgccagcgcc gcgaccacca 840
acaccggcgc ccaccatgc gtgcagccc ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca 900
gcggcgggg gcgcagtga cagaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 960
gcgccttgg ccgggacttg tgggtcctt ctctgtcac tggttatcac ctttactgc 1020
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1080

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1140
gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgccccg cgtaccagca gggccagaac 1200
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320

tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380
gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc cttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
gacacctag acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gctaa 1485

<210

> 220

<211> 1503

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5003 CAR

<400> 220

atggccctgc ctgtaccgc actgtctgtg cccctggctc tgctgtgca cgccgcacgc 60
cctgaagtcc agctggtcga gtccggggga ggcctggcgc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgca tgcaccagg caaggtgttc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcaca gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgagcgccg gtttaccatc tccagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acacctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360

gtgtttggag gatcctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggcggcggc 420
tctggaggag gaagcggagg aggatctgga ggaggctctc aggtgcagct ggtggagagc 480
ggaggaggcc tggcgcagcc aggaggcagc ctgcggctgt cctgcgaggc ctctggcttc 540
accctggact actatgccat cggctggttt aggcaggcac ctggaaagga gagggaggga 600
gtgatctgta tctccagatc tgacggctct acatactatg ccgatagcgt gaagggcagg 660
ttcaccatct cccgcgataa cgccaagaag acagtctacc tgcagatgat ctctctgaag 720
cccagggaca ccgcagcata ctattgcgca gcaggagcag attgtagcgg gtatctgcgg 780
gattatgagt ttagaggaca ggggacacag gtcacagtca gttccactag taccacgacg 840

ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc accatcgctg cgcagccctt gtccctgcgc 900
ccagaggcgt gccggccagc ggcggggggc gcagtgcaca cgagggggct ggacttcgcc 960
tgtgatctct acatctgggc gcccttggcc gggacttgtg gggctcttct cctgtcactg 1020
gttatcaccc ttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1080
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttcagaa 1140
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcggccgcg 1200
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1260

gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1320

aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1380

gagattggga tgaaggcgga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1440

ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1500

taa 1503

<210> 221

<211> 1527

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5004 CAR

<400> 221

atggctctgc ctgtgaccgc cctgtgtctg cccttggtc tgctgtgca cggcgacga 60

cccgaagtc agctggtgga atctggggga ggctgtgtgc aggcaggagg ctctctgagg 120

ctgagctgca tcgccaccgg caaggtgttc tctatctacg acatgggctg gtatcggcag 180

gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcaca gctccggcac cacacactac 240

gacgatttcg tgagcggcgc gtttaccatc tccagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300

ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360

gtgtttggag gaagctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggaggga 420

ggatccggag gaggaggatc tggaggcggc ggcgcggtc cggctctgg cggcgcgcg 480

tcccaggtgc agctggtgga gtctggagga ggctgtgtgc agccaggagg ctccctcgcg 540

ctgtcttgcg aggccagcgg cttcacctg gactactatg ccatcggtg gtttaggcag 600

gcacctggaa aggagaggga gggagtgtc tgtatcagca gatccgacgg ctctacatac 660

tatgccgata gcgtgaaggg caggttcacc atcagccgcg ataacgcaa gaagacagtc 720

tacctgcaga tgatctccct gaagcccgag gacaccgag catactattg cgcagcagga 780

gcagattgta gcggctatct gcgggattac gagtttagag gacagggcac ccaggtcacc 840

gtctcaagca ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc 900

gcgtcgagc cctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcgcgagg gggcgagtg 960

cacacagggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 1020

tgtgggttc ttctctgtc actggttacc accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1080

ctcctgtata tattcaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1140

ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagtcc 1200
 agcaggagcg cagacgcccc cgcgtagcag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1260
 aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 1320
 atggggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1380
 gataaatgg cggaggccta cagttagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1440
 gggcacgatg gcctttacca ggggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 1500
 cacatgcagg ccctgcccc tcgctaa 1527

<210> 222

<211> 1557

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5005 CAR

<400> 222

atggctctgc ctgtcactgc tctgtctgtg cccctggccc tgctgtctga cgctgctaga 60
 cccgaagtcc agctggtgga gtccggcgga ggcttggctg aggcaggagg ctctctgagg 120
 ctgagctgca tcgccaccgg caagtggttc agcatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
 gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcaca gctccggcac cacacactac 240
 gacgatttcg tgagcggccg gtttaccatc tccagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
 ctgcagatga acacctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360

gtgtttggag gaagctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
 ggatccggag gaggaggatc tggaggcggc ggcgccggct ccggtcttgg cggcgccggc 480
 agtggaggcg gcggctccgg cgccggcggc tctcaggtgc agctggtgga gtccggagga 540
 ggcttggctg agccaggagg ctccctgcgg ctgtcttgcg agccagcgg cttaccctg 600
 gactactatg ccatcggtg gtttaggcag gcacctggaa aggagaggga gggagtgtac 660
 tgtatcagca gatccgacgg ctctacatac tatgccgata gcgtgaaggg caggttcacc 720
 atctcccgcg ataacgcaa gaagacagtc tacctgcaga tgatctctct gaagcccag 780
 gacaccgag catactatg cgcagcagga gcagattgtt caggtatct gcgggattat 840

gagtttcggg gacaggggac acaggtcaca gtctccagca ctagtaccac gacgccagcg 900
 ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtcgcagc cctgttcct gcgccagag 960
 gcgtgccggc cagcggcggg gggcgagtg cacacaggg ggctggactt cgcctgtgat 1020
 atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttacc 1080

accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatttatg 1140
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1200
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagtgc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1260
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1320

ttggacaaga gacgtggccg ggacctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1380
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1440
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggctctagt 1500
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg cctgcccc tcgctaa 1557

<210> 223

<211> 1470

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAXCD38 269A37346 38A37717 GSI5006 CAR

<400> 223

atggctctgc ccgtaccgc tctgtctgc cctctggctc tgctgtgca cgcgccccgc 60
cctcaggtec agctggtcga gtcaggagga ggctgtgtgc agccaggagg cagcctgagg 120

ctgtctctgc aggctctgg cttcacctg gactactatg ccatcggtg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgtc tgtatctccc gctctgacgg ctctacatac 240
tatgccgata gcgtgaaggc ccggttcacc atctctagag acaacgcaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgtt ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gcggcgcgcg cagcagggtg cagctggtgg agtccgagg aggcctgggtg 480
caggcaggag gcagcctgcg gctgtcctgc atcgccaccg gcaaggtgtt cagcatctac 540
gatatgggat ggtataggca ggcaccagga aagcagagag agctggtggc cgagatcaca 600

tctagcggca ccacacacta cgacgatttc gtgtccggcc ggtttactat ttccaggagc 660
aacccaaga atacagtga tctgcagatg aataacctga aggccgagga tacagccgtg 720
tactattgta gagcaaatca tgtcttcggg gggctcctatt gggggcaggg cactcaggtc 780
accgtctcct caactagtac cagcagcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 840
atcgctgcg agccctgtc cctgcgcca gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca 900
gtgcacacga gggggctgga cttgcctgt gatatttaca tctggcgcc cttggccggg 960
acttgtggg tccttctcct gtcactggtt atcaccttt actgcaaagc gggcagaaag 1020

aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag taaaaactac tcaagaggaa 1080

gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1140

ttcagcagga gcgcagacgc ccccgctac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1200

ctcaatctag gacgaagaga ggagtagcat gttttggaca agagacgtgg cggggaccct 1260

gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320

aaagataaga tggcggaggc ctacagttag attgggatga aaggcagcgc cgggaggggc 1380

aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgc 1440

cttcacatgc aggcctgcc cctcgctaa 1470

<210

> 224

<211> 1485

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5007 CAR

<400> 224

atggctctgc ccgtcactgc tctgtctgtg cctctggctc tgctgtgca cggcctcgc 60

ccacaggtcc agctggctga atcaggggga ggcctggctc agccaggagg cagcctgagg 120

ctgtcctcgc aggcctctgg cttcaccttg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180

gcacctggaa aggagaggga gggagtgtc tgtatctccc gctctgacgg ctccacatac 240

tatgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atctctagag acaacgcaa gaagacagtg 300

tacctgcaga tgatcagcct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360

gcagactgtt ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420

gtgagctccg gaggaggagg atctggcgga ggaggcagcg aggtgcagct ggtggagtcc 480

ggcggcggcc tgggtgcaggc cggcggcagc ctgcggctgt cctgcatcgc caccggcaag 540

gtgttctcta tctacgatat gggatggat aggcaggcac caggaaagca gagagagctg 600

gtggccgaga tcacatctag cggcaccaca cactacgacg atttcgtgag cggccggttt 660

accatctcca gagacaacgc caagaataca gtgtatctgc agatgaatac cctgaaggcc 720

gaggatacag ccgtgtacta ttgtagagcc aaccatgtct tcggcgggtc atactggggg 780

cagggaactc aggtcactgt cagcagcact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 840

acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca 900

gcggcggggg gcgcagtga cagcaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 960

gcgcccttgg ccgggacttg tggggctcctt ctctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
 aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1080
 actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1140
 gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac 1200
 cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
 cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320

tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaagc 1380
 gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
 gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gctaa 1485

<210> 225

<211> 1503

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5008 CAR

<400> 225

atggctctgc ccgtcactgc tctgtctgtg cctctggctc tgctgtctga cgccgcaagg 60
 cctcaggctc agctggctga atcaggggga ggcctggctc agccaggagg cagcctgagg 120
 ctgtcctgcg aggcctctgg cttcacctg gactactatg ccatcggtg gtttaggcag 180

gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
 tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atctccagag acaacgcaa gaagacagtg 300
 tacctgcaga tgatctctct gaagccagag gataccgag catactattg cgcagcagga 360
 gcagactgtt ccggatacct gagggattat gattttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
 gtgagctccg gaggaggaag cggaggagga tccggaggcg gctctggcgg cggcagcgag 480
 gtgcagctgg tggagtccgg cggcggcctg gtgcaggccg gcggtccct gcggctgtct 540
 tgcacgcga ccggcaaggt gttcagcatc tacgatatgg gatggtatag gcaggcacca 600
 ggaaagcaga gagagctggt ggccgagatc acatctagcg gcaccacaca ctacgacgat 660

ttcgtgtctg gccggtttac catcagtagg gacaacgcca agaatacagt gtatctgcag 720
 atgaataccc tgaaggccga ggatacagcc gtgtactatt gtagagctaa ccatgtcttc 780
 ggggggtcat actgggggca gggcactcag gtcactgtct catccactag taccacgacg 840
 ccagcggcg gaccaccaac accggcgccc accatcgct cgcagcccct gtccctgcgc 900
 ccagaggcgt gccggccagc ggcggggggc gcagtgcaca cgagggggct ggacttcgcc 960

tgtgatatct acatctgggc gcccttggcc gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg 1020
gttatcacc cttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1080
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1140

gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgtcccccgcg 1200
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1260
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1320
aacctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1380
gagattggga tgaagagcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1440
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggecct gccccctgcg 1500
taa 1503

<210

> 226

<211> 1533

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAXCD38 269A37346 38A37717 GSI5009 CAR

<400> 226

atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgtccgaagg 60
cctcaggtec agctggtcga atcaggggga ggcttggctg agccaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgcg aggcacccgg attcaccctg gactactatg ccatcggtg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgcaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatctccct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360

gcagactgtt ctggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg atccggcgga ggaggctctg gcggcggcgg cggcggcagc 480
ggctccggcg gcggcggtc cgaggtgcag ctggtggagt ctggaggagg cctggtgcag 540
gcaggaggct ctctgcggct gagctgcac gccaccggca aggtgttcag catctacgat 600
atgggatggt ataggcaggc accaggaaaag cagagagagc tggtgccga gatcacatct 660
agcggcacca cactacga cgatttcgtg tctggccggt ttactatttc cagggacaac 720
gccaagaata cagtgtatct gcagatgaat accctgaagg ccgaggatac agccgtgtac 780
tattgtagag ctaatcacgt cttcggcggc tcttattggg ggcagggaac tcaggctact 840

gtgtcatcca ctagtactag taccacgacg ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc 900
accatcgct cgagcccct gtcctgcgc ccagaggcgt gccggccagc ggcggggggc 960
gcagtgcaca cgagggggct ggacttcgcc tgtgatctt acatctgggc gcccttggcc 1020
gggacttgtg gggctcttct cctgtcactg gttatcacc tttactgcaa acggggcaga 1080
aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca tttatgagac cagtacaaac tactcaagag 1140
gaagatggct gtagctgccg atttccagaa gaagaagaag gaggatgtga actgagagt 1200
aagttcagca ggagcgaga cgccccgcg taccagcagg gccagaacca gctctataac 1260
gagctcaatc taggacgaag agaggagtac gatgttttg acaagagacg tggccgggac 1320

cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg 1380
cagaaagata agatggcgga ggcctacagt gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg 1440
ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt ctgagtagc ccaccaagga cacctacgac 1500
gcccttcaca tgcaggccct gcccctcgc taa 1533

<210> 227

<211> 1557

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5010 CAR

<400> 227

atggctctgc ccgtcacgc tctgtctctg cccttggtc tgctgtctga cgtgtctgc 60
cctcaggctc agctggtcga atcaggagga ggcctggtgc agccaggagg ctctctgagg 120

ctgagctgcg aggcacccg attcaccctg gactactatg ccatcggtg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgtatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggc ccggttcacc atctccagag acaacgcaa gaagacagt 300
tacctgcaga tgatctctct gaagccagag gataccgag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgta gcggatacct gagggattat gattttagg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg atccggcgga ggaggctctg gaggcggcgg cggcggcagc 480
ggctcaggag gcggaggaag cggcggcggc ggtccggcg gcggcggtc tgagggtgag 540
ctggtggaga gcggaggagg cctggtgcag gcaggaggct ctctgcggct gagctgcatc 600

gccaccgga aggtgttctc catctacgat atgggatggt ataggcaggc accaggaaag 660
cagagagagc tgggtggcga gatcacatct agcggcacca cactacga cgatttcgtg 720
tctggccggt ttaccatcag tagggacaac gccaagaata cagtgtatct gcagatgaat 780

accctgaagg ccgaggatac agccgtgtac tattgtagag ctaatcatgt gtttgagggg 840
tcatactggg ggcagggaac tcaggtcact gtctcatcaa ctagtaccac gacgccagcg 900
ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtcgagc ccctgtccct gcgcccagag 960
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgagtg cacacaggg ggctggactt cgcctgtgat 1020
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggctc ttctcctgtc actggttacc 1080

accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatttatg 1140
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaaga 1200
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagtgc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1260
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1320
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1380
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1440
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1500
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgctaa 1557

<210> 228

<211> 663

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 TM and CD28-CD3 zeta intracellular signaling domain

<400> 228

attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60
catgtgaaag ggaacacct ttgtccaagt ccctatttc ccggaccttc taagcccttt 120
tgggtgctgg tgggtggttg tggagtcctg gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc 180
tttattattt tctgggtgag gagtaagagg agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac 240
atgactcccc gccgccccgg gccacccgc aagcattacc agccctatgc cccaccacgc 300
gacttcgcag cctatcgctc cagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgctac 360

cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 420
gttttgaca agagacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 480
cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagttag 540
attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aaggggcacg atggccttta ccagggtctc 600
agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggcctgcc ccctcgctga 660
taa 663

<210> 229

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> upstream primer CALL001

<400> 229

gtcctggctg ctcttctaca agg 23

<210> 230

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> downstream primer CALL002

<400> 230

ggtacgtgct gttgaactgt tcc 23

<210> 231

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> upstream primer BACK-1

<400> 231

gatgtgcagc tgcaggagtc tggaggagg 29

<210> 232

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> downstream primer BACK-2

<400> 232

gatgtgcagc tgcaggagtc tgggggagg 29

<210> 233

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> downstream primer PMCF

<400> 233

ctagtgcggc cgctgaggag acggtgacct gggt 34

<210> 234

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> EcoRI restriction site

<400> 234

gaattc 6

<210> 235

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SpeI restriction site

<400> 235

actagt 6

<210> 236

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HpaI restriction site

<400> 236

gttaac 6

<210> 237

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MluI restriction site

<400> 237

acgcgt

6

<210> 238

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> NsiI restriction site

<400> 238

atgcat

6

<210> 239

<211> 2307

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> tandem BCMA, CD38 269A37346 38A37717 GSI5013 CAR

<400> 239

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggaaagc ggggggggac tggcgcaggc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgttttagca tctacgacat gggctggtat 180

aggcaggcac caggaaagca gagggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccggttt accatcagca gagacaacgc caagaataca 300
gtgtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgccgggct 360
aatcacgtct tcggcggctc ctactggggg cagggaactc aggtcactgt gtcattccacg 420
cgtcgcatgc atactagtac cagcagcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 480
atcgctgcgc agccccgtgc cctgcgcca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 540
gtgcacacga gggggctgga cttcgctgtg gatattctaca tctgggcgcc cttggccggg 600
acttgtgggg tccttctcct gtcaactggtt atcacccttt actgcaaacg gggcagaaag 660

aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag taaaactac tcaagaggaa 720

gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 780
 ttcagcagga ggcagacgc ccccgctac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
 ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 900
 gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
 aaagataaga tggcggaggc ctacagttag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1020
 aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1080
 cttcacatgc agggccctgcc ccctcgcggc agtggagagg gcagaggaag tctgctaaca 1140

tgcggtgacg tcgaggagaa tcttggccca ggatccatgg ccttaccagt gaccgccttg 1200
 ctctgccgc tggccttgct gctccacgcc gccaggccgg ttaaccgcac gcgtcgcatg 1260
 catcaggtgc agctggtgga gtctggggga ggcttggtgc agcctggggg ttctctgagg 1320
 ctctcctgtg aagcctctgg attcactttg gattattatg ccataggctg gtccgccag 1380
 gccccaggga aggagcgca gggggtcata tgtattagta gaagtgatgg tagcacatac 1440
 tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgcaa gaaaacggtg 1500
 tatctgcaaa tgatcagcct gaaacctgag gacacggccg cttattactg tgcagcaggg 1560
 gccgattgtt cggggtacct acgagattat gagttccggg ggacggggac ccaggtcacc 1620

gtctcctcaa ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 1680
 gcgtcgagc cctgtccct gcgccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgagtg 1740
 cacacagggg ggctggactt gcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 1800
 tgtggggtcc ttctcctgtc actggttacc accctttact gcaaaccggg cagaaagaaa 1860
 ctctgtata tattcaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1920
 ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1980
 agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 2040
 aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 2100

atggggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 2160
 gataagatgg cggaggccta cagttagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 2220
 gggcacgatg gcctttacca ggggtctcag acagccacca aggacaccta cgacgcctt 2280
 cacatgcagg cctgcccc tcgctaa 2307

<210> 240

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 VHH FR1

<400> 240

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

1 5 10 15

Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser

20 25 30

<210> 241

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 VHH FR2

<400> 241

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Ala Phe Val Ala

1 5 10

<210> 242

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 VHH FR3

<400> 242

Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala

20 25 30

<210> 243

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 VHH FR4

<400> 243

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 244

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 VHH FR1

<400> 244

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 245

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 VHH FR2

<400> 245

Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala

1 5 10

<210> 246

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 VHH FR3

<400> 246

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Leu Thr Val Asp Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 247

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 VHH FR4

<400> 247

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 248

<211> 357

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 CAR

<400> 248

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 Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Glu Leu

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn

35 40 45

Ile Phe Ser Ile Asn Arg Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gln Arg Ala Phe Val Ala Ser Ile Thr Val Arg Gly Ile Thr Asn Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Thr Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala

100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr Trp

115 120 125

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr Pro

130 135 140
 Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val
 145 150 155 160
 Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys
 165 170 175
 Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
 180 185 190
 Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg
 195 200 205

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

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

 Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
 340 345 350
 Ala Leu Pro Pro Arg
 355
 <210> 249
 <211> 369

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD20 CAR

<400> 249

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 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45

Thr Phe Gly Ile Gly Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys
50 55 60

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

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

Lys Leu Thr Val Asp Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly
115 120 125

Arg Tyr His Tyr Asn Pro Ala Val Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
130 135 140

Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
145 150 155 160

Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His
165 170 175

Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val
180 185 190

Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
195 200 205

Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu

210 215 220

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
 225 230 235 240

Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
 245 250 255

Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
 260 265 270

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 275 280 285

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
 290 295 300

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 305 310 315 320

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 325 330 335

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 340 345 350

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 355 360 365

Arg

<210> 250

<211> 1077

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD19 CAR

<400> 250

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccgcaggttaa agctggagga gtctggggga gaattggtgc agcctggggg gcctctgaga 120
 ctctcctgtg cagcctcggg aaacatcttc agtatcaatc gcatgggctg gtaccgccag 180

gctccaggga agcagcgcgc gttcgtcgca tctattactg ttcgtggtat aacaaactat 240

gcagactccg tgaaggcccg attcaccatt tctgtagaca agtccaaaaa cacgatttat 300

ctgcagatga acgcactcaa acctgaggac acggccgtct attattgtaa tgcagtgtct 360

tcaaacaggg accccgacta ctggggccag gggaccagg tcaccgtctc ctcaattgaa 420

gttatgtatc ctctctcta cctagacaat gagaagagca atggaacat tatccatgtg 480

aaagggaac acctttgtcc aagtcacctt tttcccgac cttctaagcc cttttgggtg 540

ctggtggtgg ttggtggagt cctggcttgc tatagcttgc tagtaacagt ggcctttatt 600

atcttctggg tgaggagtaa gaggagcagg ctctgcaca gtgactacat gaacatgact 660

ccccccgccc ccgggcccac ccgcaagcat taccagccct atgccccacc acgcgacttc 720

gcagcctatc gctccagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag 780

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 840

gacaagagac gtggccggga ccctgagatg ggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 900

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 960

atgaaaggcg agcgcgggag gggcaagggg cagcatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1020

gccaccaagg acacctagca cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctgataa 1077

<210> 251

<211> 1113

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

CD20 CAR

<400> 251

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccgccgtgac agctggtgga gtctggggga ggcttggtgc aggtgggga ttctctgaga 120

ctctctgtg ctgcctctgg acgcaccttc ggtattggta ccatgggctg gttccgcaa 180

cctccaggga aggagcgtga attttagca gctattaggt ggagtlactg tggcactcgc 240

tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctcccgag acaacgcaa gtcacgga 300

gatctgaaa tggacagcct gaaacctgaa gacacggccg tttattactg tgcagcagat 360

agactgtccc ttgatttaag tggctgttac cactacaacc ccgccgtgta tgactattgg 420

ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta 480

gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt 540

cccctatttc ccggaccttc taagcccttt tgggtgctgg tggtaggttg tggagtcctg 600
 gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc tttattatit tctgggtgag gagtaagagg 660
 agcaggtctc tgcacagtga ctacatgaac atgactcccc gccgccccgg gccacccgc 720
 aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgcag cctatcgctc cagagtgaag 780
 ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcttac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
 ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 900

gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
 aaagataaga tggcggaggc ctacagttag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1020
 aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgc 1080
 cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctga taa 1113

<210> 252

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 137P2F primer

<400> 252

gtccttctcc tgcactggg tat 23

<210> 253

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 137P2R primer

<400> 253

tcttcttctt ctggaaatcg gca 23

<210> 254

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence 3

<400> 254

ggcggcggca ggcgcggcgg cagcggcggc ggcagcggcg gcggcagc 48

<210> 255

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A

<400> 255

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> 256

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A

<400> 256

ggcagtgagg agggcagagg aagtctgcta acatgcggtg acgtcgagga gaatcctggc 60

cca 63

<210> 257

<211> 376

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5011 CAR 269A37346

<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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln

20 25 30

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg

35 40 45
 Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile
 65 70 75 80

 Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met
 100 105 110
 Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
 115 120 125
 Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly
 130 135 140

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

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

 Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
 275 280 285

Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
 290 295 300
 Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
 305 310 315 320
 Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
 325 330 335

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
 340 345 350
 Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
 355 360 365
 His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 370 375

<210> 258

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5019 CAR 269A37353

<400> 258

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

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

100 105 110
 Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg
 115 120 125
 Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val

 130 135 140
 Thr Val Ser Ser Thr Ser 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 Gln 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> 259
<211> 372
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> GSI5020 CAR 269A37917
<400> 259
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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg
50 55 60
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser

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

130 135 140
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
145 150 155 160
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys

165 170 175
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 180 185 190
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 195 200 205
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 210 215 220
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 225 230 235 240
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 245 250 255
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 260 265 270
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 275 280 285
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 290 295 300
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 305 310 315 320
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 325 330 335
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 340 345 350
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 355 360 365
 Leu Pro Pro Arg
 370
 <210> 260
 <211> 369
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> GSI5012 CAR 38A37717

<400> 260

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 Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

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

35 40 45
Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro

50 55 60
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr

65 70 75 80
His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

85 90 95
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp

100 105 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr

115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His

130 135 140
Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr

145 150 155 160
Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala

165 170 175
Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile

180 185 190
Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser

195 200 205
Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr

210 215 220
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu

225 230 235 240
 Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
 245 250 255
 Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln

 260 265 270
 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 275 280 285
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
 290 295 300
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 305 310 315 320
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu

 325 330 335
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 340 345 350
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 355 360 365
 Arg

<210> 261

<211> 1131

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5011 CAR 269A37346

<400> 261

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120

gtgcagcctg ggggttctct gaggctctcc tgtgaagcct ctggattcac tttggattat 180

tatgccatag gctggttccg ccaggcccca gggaaggagc gcgagggggt catatgtatt 240

agtagaagtg atggtagcac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300

agagacaacg ccaagaaaac ggtgtatctg caaatgatca gcctgaaacc tgaggacacg 360

gccgcttatt actgtgcagc aggggccgat tgttcggggt acctacgaga ttatgagttc 420
 cgggggcagg ggacccaggt caccgtctcc tcaactagta ccacgacgcc agcgccgca 480
 ccaccaacac cggcgccac catcgctcg cagccctgt ccctgcgcc agaggcgtgc 540

cggccagcgg cggggggcgc agtgcacac agggggctgg acttcgcctg tgatactac 600
 atctgggcgc cttggccgg gacttgtggg gtccttctcc tgtcactggt tatcaccctt 660
 tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatatca aacaaccatt tatgagacca 720
 glacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 780
 ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg agcgacagc ccccgcgta ccagcagggc 840
 cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 900
 aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 960
 ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcgagg cctacagtga gattgggatg 1020

aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1080
 accaaggaca cctacgacgc cttcacatg caggccctgc cccctcgcta a 1131

<210> 262

<211> 1122

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5019 CAR 269A37353

<400> 262

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgctgtcca cgccgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gttaaagctgg aggagtctgg gggaggcttg 120
 gtgcaggctg ggcggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctgaacacac cttcagtagc 180
 catgtcatgg gctggttccg ccaggtcca gggaaggagc gtgagtctgt tgcagttatt 240

ggctggagag atattagcac aagctatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
 agagacaacg ccaagaagac gctgtatctg caaatgaata gcctgaaacc tgaggacacg 360
 gccgtttact actgtgcagc acgtcggatc gacgcagctg actttgatc ctgggggcag 420
 gggaccagg tcaccgtctc ctgactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
 ccggcgccca ccatcgctc gcagccctg tcctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
 gcggggggcg cagtgcacac gagggggtg gacttcgcct gtgatctcta catctgggcg 600
 cccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaa 660

cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaacat ttatgagacc agtactaaact 720

actcaagagg aagatggctg tagctgccga ttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 780

ctgagagtga agttcagcag gagcgagac gccccgcgt accagcagg ccagaaccag 840

ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 900

ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 960

aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagt agattgggat gaaaggcgag 1020

cgccggagg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcaglacag caccaaggac 1080

acctacgacg cccttcacat gcaggccctg cccctcgt aa 1122

<210> 263

<211> 1119

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5020 CAR 269A37917

<400> 263

atggccttac cagtaccgc cttgtcctg ccgtggcct tgtgtcca cgccgagg 60

ccggttaacc gcacgcgtc catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120

gtgcaggctg ggggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacgcac cttaccatg 180

gggtggttcc gtcaggctcc agggaggag cgtgagttg tagcagctat tagtttgagt 240

cctactttag catattatgc agatccgtg aaggccgat tcaccatcag ccgagacaac 300

gccaagaaca cgtgtgtttt gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggacac ggccctttat 360

tactgtgcag cagaccggaa atcagtaatg tctattcggc ccgactactg gggccagggg 420

accagggtca ccgtctctc aactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 480

gcgccacca tcgcgtcga gccctgtcc ctgcgccag aggcgtgccg gccagcgcg 540

gggggcgcag tgcacacgag ggggtggac ttgcctgtg atatctacat ctgggcgccc 600

ttggccggga ctgtgggt cttctctg tctgtgta tcaccttta ctgcaaacgg 660

ggcagaaaga aactcctgta tatattcaa caaccttta tgagaccagt acaactact 720

caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 780

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcaggcca gaaccagctc 840

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttgacaa gagacgtggc 900

cgggaccctg agatggggg aaagccgaga aggaagaacc ctgaggaagg cctgtacaat 960

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1020
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1080
tacgacgcc ttcacatgca ggcctgccc cctcgctaa 1119

<210> 264

<211> 1110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5012 CAR 38A37717

<400> 264

atggccttac cagtaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgtcca cgcgccagg 60

ccggttaacg aggtgcagct ggtggaaagc ggggggggac tgggtcaggc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgttttagca tctacgacat gggctggat 180
aggcaggcac caggaaagca gagggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccggttt accatcagca gagacaacgc caagaataca 300
gigtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgccgggct 360
aatcagctct tcggcggtc ctactggggg cagggaactc aggtcactgt gtcattccacg 420
cgctcgatgc atactaglac cagcagcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 480
atcgctgcg agccctgtc cctgcgcca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 540

gtgcacacga gggggctgga cttgcctgt gatatttaca tctgggcgcc cttggccggg 600
acttggggg tccttctcct gtcactggtt atcacccttt actgcaaagc gggcagaaag 660
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag taaaaactac tcaagaggaa 720
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 780
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgctac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 900
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
aaagataaga tggcggaggc ctacagttag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1020

aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgc 1080
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1110

<210> 265

<211> 488

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5021 CAR

<400> 265

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 Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His

35 40 45

Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp

115 120 125

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

130 135 140

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly

145 150 155 160

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met

165 170 175

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala

180 185 190

Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly

195 200 205

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln

210					215					220									
Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala				
225					230					235					240				
Asp	Arg	Lys	Ser	Val	Met	Ser	Ile	Arg	Pro	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly				
245					250					255									
Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg				
260					265					270									
Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg				
275					280					285									
Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly				
290					295					300									
Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr				
305					310					315					320				
Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg				
325					330					335									
Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro				
340					345					350									
Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu				
355					360					365									
Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala				
370					375					380									
Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu				
385					390					395					400				
Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly				
405					410					415									
Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu				
420					425					430									
Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser				
435					440					445									
Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly				
450					455					460									

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
465 470 475 480

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 266

<211> 498

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5022 CAR

<400> 266

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 Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45

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

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

165								170								175							
Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg	Thr	Phe	Thr	Met	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala								
180								185				190											
Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Phe	Val	Ala	Ala	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Thr								
195								200				205											
Leu	Ala	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg								
210								215				220											
Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Val	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro								
225				230				235				240											
Glu	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Asp	Arg	Lys	Ser	Val	Met								
245								250				255											
Ser	Ile	Arg	Pro	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser								
260								265				270											
Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro								
275								280				285											
Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro								
290				295				300															
Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp								
305				310				315				320											
Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu								
325								330				335											
Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu								
340								345				350											
Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu								
355				360				365															
Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys								
370				375				380															
Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln								
385				390				395				400											
Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu								
405				410				415															

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
420 425 430

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
435 440 445

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
450 455 460

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
465 470 475 480

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
485 490 495

Pro Arg

<210> 267

<211> 508

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5023 CAR

<400> 267

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 Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45

Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65 70 75 80

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

Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

100 105 110
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
 115 120 125
 Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 165 170 175

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

 Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
 245 250 255
 Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
 260 265 270
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
 275 280 285
 Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
 290 295 300

 Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 305 310 315 320
 His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
 325 330 335
 Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
 340 345 350

Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
355 360 365

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
370 375 380

Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
385 390 395 400

Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
405 410 415

Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
420 425 430

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
435 440 445

Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
450 455 460

Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
465 470 475 480

Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
485 490 495

Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505

<210> 268

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5024 CAR

<400> 268

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg

35

40

45

Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu

50

55

60

Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu

65

70

75

80

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

85

90

95

Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr

100

105

110

Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His

165

170

175

Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

180

185

190

Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser

195

200

205

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

210

215

220

Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr

225

230

235

240

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp

245

250

255

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser 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> 269

<211> 498

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5025 CAR

<400> 269

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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

20 25 30

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg

35 40 45

Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu

50 55 60

Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr

100 105 110

Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys

165 170 175

Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg

180 185 190

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg

195 200 205

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

210 215 220

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu

225	230								235								240										
Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Arg	Arg	Ile	Asp												
				245								250								255							
Ala	Ala	Asp	Phe	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser												
				260								265								270							
Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro												
				275								280								285							
Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro												
				290								295								300							
Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp												
305								310								315								320			
Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu												
				325								330								335							
Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu												
				340								345								350							
Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu												
				355								360								365							
Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys												
370								375								380											
Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln												
385								390								395								400			
Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu												
				405								410								415							
Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly												
				420								425								430							
Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu												
				435								440								445							
Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly												
450								455								460											
Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser												
465								470								475								480			

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
485 490 495

Pro Arg

<210> 270

<211> 503

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5026 CAR

<400> 270

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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45

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

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

165 170 175
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val
 180 185 190
 Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala
 195 200 205
 Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 210 215 220
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu
 225 230 235 240

 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 245 250 255
 Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
 260 265 270
 Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
 275 280 285
 Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
 290 295 300

 Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
 305 310 315 320
 Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
 325 330 335
 Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
 340 345 350
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 355 360 365

 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 370 375 380
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 385 390 395 400
 Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 405 410 415

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
420 425 430

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
435 440 445

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
450 455 460

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
465 470 475 480

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
485 490 495

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500

<210> 271

<211> 1467

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5021 CAR

<400> 271

atggctctgc ccgtcacgc tctgtgtctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtca aactggaaga atctggcgga ggcttggtgc aggcaggacg gaggctgcgc 120
ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agtccacag tgatgggctg gtttcggcag 180
gccccaggca aggagagaga gagcgtggcc gtgatcggct ggaggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acaacgcaa gaagacactg 300

tatctgcaga tgaacagcct gaagcccag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgacg cagcagactt tgattcctgg gccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatctgaggt gcagctggtg gagagcggag gcggcctggt gcaggccgga 480
ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg 540
caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc 600
tactatgccg agagcgtgaa gggcaggttt accatctccc gcgataacgc caagaataca 660
gtggtgctgc agatgaactc cctgaaacct gaggacacag ccctgtacta ttgtgccgcc 720

gatcgggaaga gcgtgatgag cattagacca gactattggg ggcagggaac acaggtgacc 780

gtgagcagca ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 840

gcgtcgagc cctgtccct gcgccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgagtg 900

cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 960

tgtgggttc ttctctgtc actggttact accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1020

ctctgtata tattcaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1080

ggctgtagct gccgatttc agaagaaga gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1140

agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1200

aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggcgg ggaccctgag 1260

atggggggaa agccgagaag gaagaacct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1320

gataagatgg cggaggccta cagttagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1380

gggcacgatg gcctttacca gggctcagc acagccacca aggacaccta cgacgcctt 1440

cacatgcagg cctgcccc tcgctaa 1467

<210> 272

<211> 1497

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5022 CAR

<400> 272

atggctctgc ctgtaccgc tctgtctgc cctctggctc tgctgtgca cgtgtctgc 60

cctcaggtea aactggaaga aagtggggga ggctgtgtgc aggcaggacg gacgtctgc 120

ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agtcccacg tgatgggctg gtttcggcag 180

gccccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgacggct ggaggacat ctccacatct 240

tacgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgcaa gaagacactg 300

tatctgcaga tgaatagcct gaagcccag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360

agaatcgac cagcagactt tgattcctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420

ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gatccgaggt gcagctgggtg 480

gagtctggag gcggcctggt gcaggccgga ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc 540

ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg 600

gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc tactatgcc agtccgtgaa gggcaggttt 660

accatctctc gcgataacgc caagaataca gtggtgctgc agatgaacag cctgaaacct 720
 gaggacacag cctgtacta ttgtccgcc gatcgaaga gcgtgatgag cattagacc 780
 gattattggg gacagggcac acaggtgaca gtgagtagca ctagtaccac gacgccagcg 840
 ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtgcgagc cctgtccct gcgcccagag 900
 gcgtgccggc cagcggcggg gggcgagtg cacacaggg ggctggactt cgctgtgat 960
 atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtgggtcc ttctcctgtc actggttate 1020
 accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatttatg 1080

agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1140
 gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1200
 cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1260
 ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1320
 caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1380
 gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggctctcagt 1440
 acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg cctgcccc tcgctaa 1497

<210

> 273

<211> 1527

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5023 CAR

<400> 273

atggctctgc ccgtaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcaaga 60
 ccacaggtca aactggaaga atcaggagga ggcttggtgc aggagagac gagcctgcgc 120
 ctgagctgcg cagcatccga gcacacctc agtcccacg tgatgggctg gtttcggcag 180
 gccccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgacggct ggaggacat ctccacatct 240
 tacgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acaacgcaa gaagacactg 300
 tatctgcaga tgaacagcct gaagcccag gacaccgccc tgtactattg cgcagcaagg 360

agaatcgacg cagcagactt tgatagctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
 ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gaagcggcgg cggcggtct 480
 ggcggcgggc gcagcaggt gcagctggtg gagagcggcg gcggcctggt gcaggccggc 540
 ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg 600
 caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc 660

tactatgccg agagcgtgaa gggcaggttt accatctccc gcgataacgc caagaataca 720
 gtggtgttac aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag ccctgtacta ttgtgccgcc 780
 gatcggaaga gcgtgatgag cattagacc gattattggg ggcaggggac acaggtgacc 840

gtgagcagca ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 900
 gcgtcgagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgagtg 960
 cacacgaggg ggcctggactt cgctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 1020
 tgtgggtcc ttctcctgtc actggttacc accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1080
 ctctgtata tattcaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1140
 ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1200
 agcaggagcg cagacgcccc cgctaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1260
 aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 1320

atggggggaa agccgagaag gaagaacct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1380
 gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1440
 gggcacgatg gcctttacca gggctctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 1500
 cacatgcagg ccctgcccc tcgctaa 1527

<210> 274

<211> 1482

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5024 CAR

<400> 274

atggctctgc ctgtgaccgc actgtgtctg cctctggctc tgctgtgca cgccgcacga 60
 cctgaagtcc agctggtgga atccggggga ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgagg 120

ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
 aaggagaggg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
 agcgtgaagg gcaggtttac catctccgc gacaacgcca agaatacagt ggtgtctgag 300
 atgaacagcc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgcgcccga tcggaagtct 360
 gtgatgagca tcagaccga ttactggggc cagggcaccc aggtgacagt gagctccgga 420
 ggaggaggat ccggcgagg aggtctctcag gtgaagctgg aggagtccgg aggcggcctg 480
 gtgcaggccg gacggtccct gagactgtct ttgtgcccca gcgagcacac ctctcttagc 540

cacgtgatgg gatggttcag gcaggcacct ggaaaggaga gggagtccgt ggcagtgatc 600

ggatggaggg acatcagcac atcctacgcc gattctgtga agggccggtt caccatcagc 660
agagacaacg ccaagaagac actgtattta caaatgaaca gcctgaagcc cgaggatacc 720
gccgtgtact attgtgccgc ccggcggatt gacgccgag actttgactc atgggggcag 780
ggaactcagg tgaccgtgtc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgag accaccaaca 840
ccggcgccca ccacgcgtc gcagccctg tccctgcgc cagaggcgtg ccggccagcg 900
gcggggggcg cagtgacac gagggggctg gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg 960
cccttgccg ggacttgtgg ggtccttctc ctgtactgg ttatcacct ttactgcaa 1020
cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaacat ttatgagacc agtacaaact 1080

actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 1140
ctgagagtga agttcagcag gagcgagac gccccgcgt accagcaggg ccagaaccag 1200
ctctataacg agtcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 1260
ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1320
aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1380
cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcaglacagc caccaaggac 1440
acctacgacg cccttcacat gcaggccctg cccctcgt aa 1482

<210

> 275

<211> 1497

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5025 CAR

<400> 275

atggccctgc ctgtaccgc tctgtctgtg ccctggccc tgtgtctgca cgccgcacgc 60
cctgaggtec agctggtcga gtccggggga ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaacctc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagagg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
tccgtgaagg gcaggtttac catctctgc gacaaccca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaactccc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccgccga tcggaagtct 360

gtgatgagca tcagaccga ttactggggc cagggcaccc aggtgacagt gagtccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggccttggc ggcggcggca gccaggtgaa gctggaggag 480

agcggaggcg gcctggtgca ggccggacgg tccctgagac tgtcttgtgc cgccagcgag 540
cacacattct ctagccacgt gatgggatgg ttcaggcagg cacctggaaa ggagagggag 600
tctgtggccg tgatcggtcg gagggacatc agcacatcct acgccgatag cgtgaagggc 660
cggttcacca tctccagaga caacgccaag aagacactgt atctgcagat gaatagcctg 720
aagcccaggg ataccgccgt gtactattgt gccgccgggc ggattgacgc cgcagatttt 780
gattcttggg ggcagggaac tcaggtgacc gtgtcctcaa ctagtaccac gacgccagcg 840

ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtcgacgc ccctgtccct gcgccagag 900
gcgtgcccgc cagcggcggg gggcgagtg cacacagggg ggctggactt cgcctgtgat 960
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtgggtcc ttctcctgtc actggttatt 1020
accctttact gcaaaccggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaca accatttatg 1080
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1140
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagtgc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1200
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1260
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1320

caggaaggcc tglacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1380
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggttctcagt 1440
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgctaa 1497

<210> 276

<211> 1512

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GSI5026 CAR

<400> 276

atggctctgc ctgtgaccgc cctgtctctg cccctggccc tgctgtctga cgccgcacga 60
cctgaagtcc agctggtgga atctggcgga ggctgtgtgc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180

aaggagaggg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccttggccta ctatgccgag 240
tctgtgaagg gcaggtttac catcagccgc gacaaccca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaacagcc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccgccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagaccga ttactggggc cagggcacc caggtagacgt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggtctctggc ggccggcggt ccggcggcgg cggtcccag 480

gtgaagctgg aggagtccgg aggcggcctg gtgcaggccg gacggtccct gagactgtct 540
 tgtgccgcca gcgagcacac cttctctagc cacgtgatgg gatggttcag gcaggcacct 600
 ggaaaggaga gggagagcgt ggcagtgatc gcatggaggg acatcagcac atcctacgcc 660

gattccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaacg ccaagaagac actgtattta 720
 caaatgaaca gcctgaagcc cgaggatacc gccgtgtact attgtgccgc ccggcggatt 780
 gatgccgcag actttgatag ttggggacag gggactcagg tcaccgtcag cagcactagt 840
 accacgacgc cagcgcgcgc accaccaaca ccggcgccca ccatcgctc gcagcccctg 900
 tcctcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 960
 gacttcgctt gtgatatcta catctgggcg cccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc 1020
 ctgtcactgg ttatcacctt ttactgcaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 1080
 aaacaacat ttatgagacc agtacaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 1140

tttcagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgagac 1200
 gccccgcgt accagcaggg ccagaaccag ctctataacg agtcaatct aggacgaaga 1260
 gaggagtacg atgttttga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1320
 agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1380
 gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1440
 taccagggtc ttagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1500
 cccctcgct aa 1512

<210

> 277

<211> 768

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> tandem BCMA, CD38 269A37346 38A37717 GSI5013 CARs

<400> 277

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 Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

 Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
 245 250 255
 Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
 260 265 270
 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 275 280 285
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly

290				295				300							
Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln
305				310				315				320			
Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu
325				330				335							
Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr
340				345				350							
Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro
355				360				365							
Arg	Gly	Ser	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Thr	Cys	Gly	Asp	Val
370				375				380							
Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Gly	Ser	Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu
385				390				395				400			
Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	His	Ala	Ala	Arg	Pro	Val	Asn	Arg
405				410				415							
Thr	Arg	Arg	Met	His	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu
420				425				430							
Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Glu	Ala	Ser	Gly	Phe
435				440				445							
Thr	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Ala	Ile	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys
450				455				460							
Glu	Arg	Glu	Gly	Val	Ile	Cys	Ile	Ser	Arg	Ser	Asp	Gly	Ser	Thr	Tyr
465				470				475				480			
Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala
485				490				495							
Lys	Lys	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Ile	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr
500				505				510							
Ala	Ala	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Gly	Ala	Asp	Cys	Ser	Gly	Tyr	Leu	Arg
515				520				525							
Asp	Tyr	Glu	Phe	Arg	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr
530				535				540							

Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
545 550 555 560

Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
565 570 575

Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
580 585 590

Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
595 600 605

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
610 615 620

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
625 630 635 640

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
645 650 655

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
660 665 670

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
675 680 685

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
690 695 700

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
705 710 715 720

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
725 730 735

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
740 745 750

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
755 760 765