



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0130395
(43) 공개일자 2020년11월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 35/17 (2014.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01) C07K 14/725 (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01) C12N 15/85 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2896 (2013.01)
A61K 35/17 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7028896
- (22) 출원일자(국제) 2019년03월11일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년10월07일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/021681
- (87) 국제공개번호 WO 2019/173837
국제공개일자 2019년09월12일
- (30) 우선권주장
62/640,775 2018년03월09일 미국(US)

- (71) 출원인
소렌토 제라퓨틱스, 인코포레이티드
미국 캘리포니아주 92121 샌 디에고 디렉터스
플레이스 4955
- (72) 발명자
지 헨리 홍권
미국 캘리포니아주 92121 샌 디에고 디렉터스 플
레이스 4955
귀 원중
미국 캘리포니아주 92121 샌 디에고 디렉터스 플
레이스 4955
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장훈

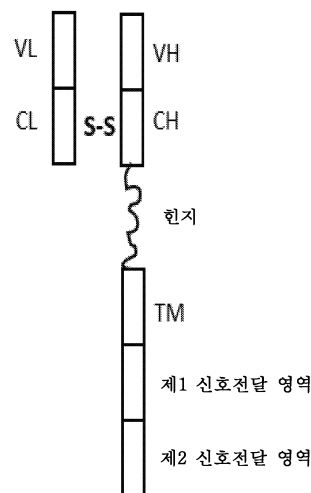
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 이량체 항원 수용체(DAR)

(57) 요약

본 개시내용은 하나의 폴리펩타이드 쇄상의 중쇄 결합 영역 및 별개의 폴리펩타이드 쇄상의 경쇄 결합 영역을 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공한다. 이량체 항원 수용체를 구성하는 2개의 폴리펩타이드 쇄는 이량체화되어 항원 결합 도메인을 형성할 수 있다. 이량체 항원 수용체는 표적 항원에 특이적으로 결합하기 때문에 항체와 유사한 특성을 가지고 있다. 이량체 항원 수용체는 지향성 세포 요법을 위해 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C07K 14/70517 (2013.01)
C07K 14/70521 (2013.01)
C07K 14/70578 (2013.01)
C12N 15/62 (2013.01)
C12N 15/85 (2013.01)
C12N 5/0636 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)

(72) 발명자

장 연량

미국 캘리포니아주 92121 샌 디에고 디렉터스 플레
이스 4955

카우프만 군나르 에프.

미국 캘리포니아주 92121 샌 디에고 디렉터스 플레
이스 4955

딩 베이 베이

미국 캘리포니아주 92121 샌 디에고 디렉터스 플레
이스 4955

명세서

청구범위

청구항 1

제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 포함하는 항원 결합 도메인을 포함하는 이량체 항원 수용체 (DAR) 작제물로서,

a) 상기 제1 폴리펩타이드 쇠가 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) 힌지 영역 또는 힌지 영역 부재, (iv) 막관통 영역(TM) 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하고;

b) 상기 제2 폴리펩타이드 쇠가 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)를 포함하는, 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물.

청구항 2

제1항에 있어서,

a) 상기 제1 폴리펩타이드 쇠가 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는 CD38 항체 중쇄 가변 영역을 포함하는 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 CD38 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 힌지 영역, 및 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역과 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 힌지 영역을 포함하는 힌지 영역으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 CD28 막관통 영역을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9 또는 서열번호 20의 아미노산 서열을 갖는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하고;

b) 상기 제2 폴리펩타이드 쇠가 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖는 CD38 항체 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 경쇄 가변 영역(VL) 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하고,

상기 항체 중쇄 불변 영역 및 상기 항체 경쇄 불변 영역이 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역이 CD38 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성하는, 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물.

청구항 3

제2항의 이량체 항원 수용체(DAR)를 암호화하는 핵산.

청구항 4

제3항의 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터.

청구항 5

제4항의 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 벡터가 발현 벡터이고, 상기 발현 벡터가 상기 이량체 항원 수용체(DAR)를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역(발현)을 지시하는, 숙주 세포.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단이 T 림프구(T 세포, 조절 T 세포, 감마-델타 T 세포 및 세포독성 T 세포), NK(자연 살해) 세포, 대식세포, 수지상세포, 비만세포, 호산구, B 림프구 또는 단핵구를 포함하는, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단.

청구항 8

대상체에서의 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 상기 대상체에게 제5항의 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법.

청구항 9

대상체에서의 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 상기 대상체에게 상기 제6항의 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법.

청구항 10

아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 중쇄 리더 서열, (2) 항체 중쇄 가변 영역, (3) 항체 중쇄 불변 영역, (4) 임의의 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 서열, (8) 경쇄 리더 서열, (9) 항체 경쇄 가변 영역 및 (10) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드.

청구항 11

제10항에 있어서, (1) 상기 중쇄 리더 서열이 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하고; (2) 상기 항체 중쇄 가변 영역이 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역을 포함하고; (3) 상기 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역을 포함하고; (4) 상기 힌지 영역이 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 힌지 영역, 및 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역과 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 힌지 영역을 포함하는 힌지 영역으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; (5) 상기 막관통 영역이 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역을 포함하고; (6) 상기 세포내 신호전달 영역이 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열, 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (긴) 신호전달 서열 및/또는 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 신호전달 서열 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함하고; (7) 상기 T2A 절단 서열이 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하고; (8) 상기 경쇄 리더 서열이 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하고; (9) 상기 항체 경쇄 가변 영역이 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역을 포함하고; (10) 상기 항체 경쇄 불변 영역이 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는, 전구체 폴리펩타이드.

청구항 12

제11항에 있어서, 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는, 전구체 폴리펩타이드.

청구항 13

제11항의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산.

청구항 14

제11항의 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터.

청구항 15

제14항의 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 벡터가 발현 벡터이고, 상기 발현 벡터가 이량체 항원 수용체(DAR)를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역(발현)을 지시하는, 숙주 세포.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단이 T 림프구(T 세포, 조절 T 세포, 감마-델타 T 세포 및 세포독성 T 세포), NK(자연 살해) 세포, 대식세포, 수지상세포, 비만세포, 호산구, B 림프구 또는 단핵구를 포함하는, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단.

청구항 18

대상체에서의 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 상기 대상체에게 상기 제15항의 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법.

청구항 19

대상체에서의 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 상기 대상체에게 상기 제16항의 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, 상기 질환이 비호지킨 림프종(NHL), 버킷 림프종(BL), B 만성 림프구성 백혈병(B-CLL), B 및 T 급성 림프구성 백혈병(ALL), T 세포 림프종(TCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 모발성 세포 백혈병(HCL), 호지킨 림프종(HL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 다발성 골수종(MM)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 혈액 암인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호참조**

[0002] 본 출원은 2018년 3월 9일자로 출원되고 발명의 명칭이 "이량체 항원 수용체 및 2가 항원 수용체(Dimeric Antigen Receptors and Bivalent Antigen Receptors)"인 미국 가특허 출원 제62/640,775호에 대한 우선권 혜택을 35 U.S.C. § 119 하에 주장하며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 본 출원 전반에 걸쳐 다양한 공보, 특허 및/또는 특허 출원이 참조된다. 공보, 특허 및/또는 특허 출원의 개시 내용은 본 개시내용이 속하는 최신 기술을 보다 충분하게 설명하기 위해 그 전체가 본 출원에 참고로 포함된다.

[0004] **기술 분야**

[0005] 본 개시내용은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체(DAR) 단백질 작제물, 상기 이량체 항원 수용체를 암호화하는 핵산, 상기 핵산을 포함하는 벡터 및 상기 벡터를 보유하는 숙주 세포를 제공한다.

배경 기술

[0006] 특히 암과 연관된 항원을 표적화하기 위해 키메라 항원 수용체(CAR)가 개발되었다. 1세대 CAR은 활성화 자극(신호 1)만을 전달하는 신호전달 도메인(TCR ζ)을 함유하도록 조작되었다(Geiger et al., *J. Immunol.* 162(10): 5931-5939, 1999; Haynes et al., *J. Immunol.* 166(1): 182-187, 2001) (Hombach et al. *Cancer Res.* 61(5): 1976-1982, 2001; Hombach et al., *J. Immunol.* 167(11): 6123-6131, 2001; Maher et al., *Nat. Biotechnol.* 20(1): 70-75, 2002). 1세대 CAR만이 이식된 T 세포는 차선의 활성화로 인해 제한된 항종양 효능을 나타냈다(Beecham et al., *J. Immunother.* 23(6): 631-642, 2000). 2세대 CAR인 면역글로불린-CD28-T 세포 수용체(IgCD28TCR)는 공동자극 CD28(신호 2)을 1세대 수용체에 통합시킨 것으로(Finney et al., *J. Immunol.* 161(6): 2791-2797, 1998; Hombach et al., *Cancer Res.* 61(5): 1976-1982, 2001, Maher et al., *Nat. Biotechnol.* 20(1): 70-75, 2002), 이는 CAR-T 세포에 더 큰 항종양 능력을 제공하였다(Gerstmayr et al., *J. Immunol.* 158(10): 4584-4590, 1997; Emtage et al., *Clin. Cancer Res.* 14(24): 8112-8122, 2008; Lo, Ma et al., *Clin. Cancer Res.* 16(10): 2769-2780, 2010). TCR ζ 또는 CD28의 신호 도메인을 FcR γ, 4-1BB 및 OX40과 같은 유사한 기능을 갖는 분자로 대체함으로써 다양한 CAR 변이체가 개발되었다(Eshhar et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 90(2): 720-724, 1993). 다양한 종양 항원에 대한 TCR CAR-T 세포가 개발되었다(Ma et al., *Cancer Gene Ther.* 11(4): 297-306, 2004; Ma et al., *Prostate* 61(1): 12-25, 2004; Lo et al., *Clin. Cancer Res.* 16(10): 2769-2780, 2010; Kong et al., *Clin. Cancer Res.* 18(21): 5949-

5960, 2012; Ma et al., *Prostate* 74(3): 286-296, 2014; Katz et al., *Clin. Cancer Res.* 21(14): 3149-3159, 2015; Junghans et al., 2016 *The Prostate*, 76(14):1257-1270).

[0007] 재지시된 종양과괴 활성(tumoricidal activity)을 위해 키메라 항원 수용체(CAR)로 조작된 T 세포의 주입에 의한 입양 면역요법은 전이성 암의 치료를 위한 잠재적으로 매우 특이적인 양상을 나타낸다. B 세포에서 발견되는 분자인 CD19를 표적으로 하는 CAR-T 세포는 B 세포 악성종양의 치료에서 성공을 보여주었고 FDA 승인을 받았으며, 일부 시험에서는 지속적인 완전 반응을 포함하는 최대 70%의 반응을 보여주었다.

[0008] 따라서, 당업계에서는, 항체 지향성 세포 요법(directed cell therapy)에서 별개의 폴리펩타이드 쇄 내에 중쇄 결합 영역과 경쇄 결합 영역 둘 다를 갖는 항체를 사용한 CAR 치료의 강력한 효능을 활용하는 것이 여전히 요구된다. 본 개시내용은 당업계의 이러한 요구를 충족시키기 위해 구성되었다.

발명의 내용

[0009] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 중쇄 리더 서열, (2) 항체 중쇄 가변 영역, (3) 항체 중쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 서열, (8) 경쇄 리더 서열, (9) 항체 경쇄 가변 영역 및 (10) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR) 전구체 폴리펩타이드를 제공한다.

[0010] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 경쇄 리더 서열, (2) 항체 경쇄 가변 영역, (3) 항체 경쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 서열, (8) 중쇄 리더 서열, (9) 항체 중쇄 가변 영역 및 (10) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR) 전구체 폴리펩타이드를 제공한다.

[0011] 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 IgG, IgA, IgM, IgE 및 IgD로 이루어진 그룹으로부터 선택된 항체로부터의 힌지 서열을 임의로 포함한다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 CD8 α 또는 CD28 힌지 영역으로부터의 힌지 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 CPPC 또는 SPPC 아미노산 서열을 포함하는 힌지 영역을 포함한다.

[0012] 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 CD8 α , CD8 β , 4-1BB/CD137, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16, OX40/CD134, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , TCR β , TCR ζ , CD32, CD64, CD64, CD45, CD5, CD9, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD137, CD154, LFA-1 T 세포 보조수용체, CD2 T 세포 보조수용체/부착 분자, CD40, CD40L/CD154, VEGFR2, FAS 또는 FGFR2B로부터의 막관통 영역을 포함한다.

[0013] 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 4-1BB, CD3제타, CD28, CD27, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, 림프구 기능-연관된 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, GITR (TNFRSF18), DR3 (TNFRSF25), TNFR2 및/또는 CD226으로부터의 2 내지 5개의 신호전달 서열의 임의의 순서 및 임의의 조합으로 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함한다.

[0014] 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다.

[0015] 본 개시내용은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 또는 3개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR)를 제공하고, 여기서 상기 항체 중쇄 불변 영역 및 상기 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역은 항원 결합 도메인을 형성한다.

[0016] 본 개시내용은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 또는 3개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR)를 제공하고, 여기서 상기 항체 중쇄 불변 영역 및 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역은 항원 결합 도메인을 형성한다.

- [0017] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR)는 1개 또는 2개의 디설파이드 결합을 통해 이량체화하는 항체 중쇄 불변 영역과 항체 경쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0018] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR)는 IgG, IgA, IgM, IgE 및 IgD로 이루어진 그룹으로부터 선택된 항체로부터 유래될 수 있는 힌지 영역을 임의로 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지는 CD8 α 또는 CD28 힌지 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 CPPC 또는 SPCC 아미노산 서열을 포함한다.
- [0019] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR)는 CD8 α , CD8 β , 4-1BB/CD137, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16, OX40/CD134, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , TCR β , TCR ζ , CD32, CD64, CD64, CD45, CD5, CD9, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD137, CD154, LFA-1 T 세포 보조수용체, CD2 T 세포 보조수용체/부착 분자, CD40, CD40L/CD154, VEGFR2, FAS 및 FGFR2B로부터의 막관통 영역을 포함한다.
- [0020] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR)는 4-1BB, CD3제타, CD28, CD27, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, 림프구 기능-연관된 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, GITR (TNFRSF18), DR3 (TNFRSF25), TNFR2 및/또는 CD226으로부터의 2 내지 5개의 신호전달 서열의 임의의 순서 및 임의의 조합으로 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함한다.
- [0021] 본 개시내용은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역 및 임의로, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 제2 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9 또는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR)를 제공하고, 여기서 상기 항체 중쇄 불변 영역 및 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역은 CD38 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 선택적이다.
- [0022] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR)는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0023] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR)는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 포함한다.
- [0024] 본 개시내용은 (1) 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 리더 서열; (2) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 가변 영역; (3) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 불변 영역; (4) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 선택적인 힌지 영역; (5) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 막관통 영역; (6) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열, 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (긴) 신호전달 서열 및/또는 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 신호전달 서열 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함하는 세포내 신호전달 영역; (7) 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 T2A 절단 서열; (8) 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 리더 서열; (9) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 가변 영역; 및 (10) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0025] 본 개시내용은 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0026] 본 개시내용은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역 및 임의로, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 제2 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9 또는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을

포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 동일한 핵산 또는 제2 핵산을 제공하고, 여기서, 상기 항체 중쇄 불변 영역 및 상기 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역 CD38 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 선택적이다.

- [0027] 일 실시형태에서, 핵산은 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화한다.
- [0028] 일 실시형태에서, 핵산은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화한다.
- [0029] 본 개시내용은 (1) 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 리더 서열; (2) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 가변 영역; (3) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 불변 영역; (4) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 선택적인 힌지 영역; (5) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 막관통 영역; (6) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열, 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (긴) 신호전달 서열 및/또는 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 신호전달 서열 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함하는 세포내 신호전달 영역; (7) 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 T2A 절단 서열; (8) 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 리더 서열; (9) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 가변 영역; 및 (10) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0030] 본 개시내용은 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 갖는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0031] 일 실시형태에서, 벡터는 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 포함한다.
- [0032] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내로의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 일시적 도입을 지시한다.
- [0033] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포의 게놈 내로의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 안정한 삽입을 지시한다.
- [0034] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단에서의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역을 지시한다. 예를 들어, 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단에서의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역(예를 들어, 발현)을 지시하는, 유도성 및/또는 항시성 프로모터 및 인핸서와 같은 하나 이상의 조절 서열을 포함할 수 있다.
- [0035] 본 개시내용은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역 및 임의로, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 제2 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9 또는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 동일한 벡터 또는 제2 벡터를 제공하고, 여기서 상기 항체 중쇄 불변 영역 및 상기 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역은 CD38 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성한다. 일 실시형태에서, 벡터는 발현 벡터를 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 선택적이다.
- [0036] 일 실시형태에서, 발현 벡터는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 서열번호 14의 아

미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.

- [0037] 일 실시형태에서, 제1 발현 벡터는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되고 제2 발현 벡터는 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.
- [0038] 일 실시형태에서, 발현 벡터는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.
- [0039] 실시형태에서, 제1 발현 벡터는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되고 제2 벡터는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.
- [0040] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내로의 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 일시적 도입을 지시한다.
- [0041] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포의 계놈 내로의 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 안정한 삽입을 지시한다.
- [0042] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단에서의 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역을 지시한다. 예를 들어, 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단에서의 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역(예를 들어, 발현)을 지시하는, 유도성 및/또는 항시성 프로모터 및 인핸서와 같은 하나 이상의 조절 서열을 포함할 수 있다.
- [0043] 본 개시내용은 (1) 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 리더 서열; (2) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 가변 영역; (3) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 불변 영역; (4) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 선택적인 힌지 영역; (5) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 막관통 영역; (6) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열, 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (긴) 신호전달 서열 및/또는 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 신호전달 서열 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함하는 세포내 신호전달 영역; (7) 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 T2A 절단 서열; (8) 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 리더 서열; (9) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 가변 영역; 및 (10) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0044] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 보유한다.
- [0045] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단이 보유하는 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내로의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 일시적 도입을 지시하는 발현 벡터를 포함한다.
- [0046] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포의 계놈 내로의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 안정한 삽입을 지시한다.
- [0047] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단에서의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역을 지시한다. 예를 들어, 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단에서의 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역(예를 들어, 발현)을 지시하는 유도성 및/또는 항시성 프로모터 및 인핸서와 같은 하나 이상의 조절 서열을 포함할 수 있다.
- [0048] 본 개시내용은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역 및 임의로, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 제2 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9 또는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체

경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공하고, 여기서, 상기 항체 중쇄 불변 영역 및 상기 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역은 CD38 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 선택적이다. 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드 쇄의 전사 및/또는 번역(예를 들어, 발현)을 지시하는 발현 벡터를 보유한다. 일 실시형태에서, 숙주 세포는 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드 쇄를 발현한다.

[0049] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 보유한다.

[0050] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 벡터 및 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제2 벡터를 보유한다.

[0051] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드 및 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 보유한다.

[0052] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 벡터 및 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제2 벡터를 보유한다.

[0053] 본 개시내용은 대상체에서의 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 중쇄 리더 영역, (2) 항체 중쇄 가변 영역, (3) 항체 중쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 경쇄 리더 영역, (9) 항체 경쇄 가변 영역 및 (10) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 대상체에게 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0054] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (1) 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 리더 서열; (2) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 가변 영역; (3) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 불변 영역; (4) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 선택적인 힌지 영역; (5) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 막관통 영역; (6) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열, 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (긴) 신호전달 서열 및/또는 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 신호전달 서열 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함하는 세포내 신호전달 영역; (7) 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 T2A 절단 서열; (8) 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 리더 서열; (9) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 가변 영역; 및 (10) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유한다.

[0055] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유한다.

[0056] 본 개시내용은 대상체에서의 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역 및 임의로, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 제2 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9 또는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴

리셉타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 대상체에게 투여함을 포함하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역 및 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역은 CD38 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 선택적이다.

- [0057] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 T 림프구(예를 들어, T 세포, 조절 T 세포, 감마-델타 T 세포 및 세포독성 T 세포), NK(자연 살해) 세포, 대식세포, 수지상세포, 비만세포, 호산구, B 림프구 및 단핵구로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0058] 일 실시형태에서, 숙주 세포는 체대혈 유래의 NK 세포 또는 태반 유래의 NK 세포를 포함하는 NK 세포를 포함한다.
- [0059] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내로의 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 일시적 도입을 지시한다.
- [0060] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포의 계놈 내로의 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 안정한 삽입을 지시한다.
- [0061] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단 내의 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단에서의 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역을 지시한다. 예를 들어, 발현 벡터는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단에서의 제1 및/또는 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산의 전사 및/또는 번역(예를 들어, 발현)을 지시하는 유도성 및/또는 항시성 프로모터 및 인핸서와 같은 하나 이상의 조절 서열을 포함할 수 있다.
- [0062] 일 실시형태에서, 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태는 혈액 유방암, 난소암, 전립선암, 두경부암, 폐암, 방광암, 흑색종, 결장직장암, 췌장암, 폐암, 간암, 신장암, 식도암, 평활근종, 평활근육종, 신경교종 및 교모세포종을 포함하지만 이에 한정되지 않는 암이다.
- [0063] 일 실시형태에서, 질환은 비호지킨 림프종(NHL), 버킷 림프종(BL), B 만성 림프구성 백혈병(B-CLL), B 및 T 급성 림프구성 백혈병(ALL), T 세포 림프종(TCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 모발성 세포 백혈병(HCL), 호지킨 림프종(HL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 다발성 골수종(MM)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 혈액 암이다.

도면의 간단한 설명

- [0064] **도 1**은 2개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 예시적인 이량체 항원 수용체를 도시하는 개략도이다.
- 도 2**는 3개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 예시적인 이량체 항원 수용체를 도시하는 개략도이다.
- 도 3**은 2개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 예시적인 이량체 항원 수용체를 도시하는 개략도이다.
- 도 4**는 3개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 예시적인 이량체 항원 수용체를 도시하는 개략도이다.
- 도 5**는 T2A 절단 서열 및 3개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 예시적인 전구체 폴리펩타이드 분자를 도시하는 개략도이다.
- 도 6**은 T2A 절단 서열 및 2개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 예시적인 전구체 폴리펩타이드 분자를 도시하는 개략도이다.
- 도 7**은 T2A 절단 서열 및 3개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 예시적인 전구체 폴리펩타이드 분자를 도시하는 개략도이다.
- 도 8**은 T2A 절단 서열 및 2개의 세포내 신호전달 서열을 포함하는 예시적인 전구체 폴리펩타이드 분자를 도시하는 개략도이다.
- 도 9**는 CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 작제물을 발현하는 T 세포를 CD38 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 발현하는 T 세포와 비교하는 유세포분석 연구의 결과를 도시한다. 음성 대조군은 녹아웃(knocked-out) TRAC(T-세포 수용체 알파 불변) 유전자를 보유하는 세포주이다. DAR(V1) 작제물은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다.
- 도 10**은 RPMI 8226 표적 세포에 대한, CD38 CAR 또는 CD38 DAR을 발현하는 T 세포의 세포독성 퍼센트를 나타내

는 그래프이다. 음성 대조군(선 A)은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR(V1) 작제물(B 점선)은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 CAR 작제물은 지정되어 있다(선 C).

도 11은 CD38 CAR V1 또는 V2 작제물을 발현하는 T 세포를 비교하는 유세포분석 연구의 결과를 도시한다. 음성 대조군은 도 1에 설명된 동일한 세포주(TRAC KO)이다. CD38 DAR(V1) 작제물은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V2b) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다.

도 12는 RPMI 8226 표적 세포에 대한, CD38 CAR, CD38 DAR(V1) 또는 CD38 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 T 세포의 세포독성 퍼센트를 나타내는 그래프이다. 음성 대조군(선 A)은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR(V1) 작제물(선 B)은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V2b) 작제물(C 점선)은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 CAR 작제물은 지정되어 있다(선 D)

도 13은 CD38 CAR, CD38 DAR(V1) 또는 CD38 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 T 세포로부터의 IFN-감마 방출 수준을 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 RPMI 8226 세포, K562 세포 및 배지를 나타낸다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC(T-세포 수용체 알파 불변) 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR(V1) 작제물은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V2b) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다.

도 14는 CD38 CAR, CD38 DAR(V1) 또는 CD38 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 T 세포로부터의 TNF-알파 방출 수준을 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 RPMI 8226 세포, K562 세포 및 배지를 나타낸다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC(T-세포 수용체 알파 불변) 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR(V1) 작제물은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V2b) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다.

도 15는 CD38 CAR, CD38 DAR(V1) 또는 CD38 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 T 세포로부터의 IL-2 방출 수준을 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 RPMI 8226 세포, K562 세포 및 배지를 나타낸다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR(V1) 작제물은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V2b) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다.

도 16은 K562 또는 RPMI 8226 세포와 함께 공동배양될 때 CAR 또는 DAR(V1) 또는 (V2b) 작제물을 발현하는 T 세포의 증대(expansion) 능력을 비교하는 유세포분석 연구의 결과를 도시한다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC(T-세포 수용체 알파 불변) 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR(V1) 작제물은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V2b) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다.

도 17은 K562 또는 RPMI 8226 세포와 함께 공동배양될 때 CAR 또는 DAR(V1) 또는 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 T 세포의 증대의 배수 변화를 나타내는 막대 그래프이다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC(T-세포 수용체 알파 불변) 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR(V1) 작제물은 CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 갖는 긴 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V2b) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다.

도 18은 이종이식 동물 모델에서 평가된 CD38 DAR T 세포의 종양파괴 활성을 도시한다. 음성 대조군 마우스에게는 포스페이트-완충 식염수 또는 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주가 투여되었다. 시험 마우스에게는 짧은 힌지 서열, 및 CD28 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 신호전달 영역을 포함하는

CD38 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 T 세포가 투여되었다.

도 19는 이중이식 동물 모델에서 평가된 CD38 DAR(V2a) T 세포의 중앙과외 활성을 도시한다. 음성 대조군 마우스에게는 포스페이트-완충 식염수 또는 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주가 투여되었다. 시험 마우스에게는 짧은 힌지 서열, 및 4-1BB 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 신호전달 영역을 포함하는 CD38 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 T 세포가 투여되었다.

도 20은 CD38 DAR(V2a) 또는 (V3) 작제물을 발현하는 T 세포를 비교하는 유세포분석 연구의 결과를 도시한다. 음성 대조군은 활성화된 T 세포 및 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주를 포함한다. CD38 DAR(V2a) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V3) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB, 및 단축된 ITAM 영역을 갖는 CD3제타를 포함한다.

도 21은 RPMI 8226 표적 세포에 대한, CD38 DAR(V2a)을 발현하는 T 세포의 세포독성 퍼센트를 (V3)와 비교하여 나타내는 그래프이다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주(선 A)이다. CD38 DAR(V2a) 작제물(선 B)는 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V3) 작제물(선 C)은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB, 및 단축된 ITAM 영역을 갖는 CD3제타를 포함한다.

도 22는 CD38 DAR(V2a)을 발현하는 T 세포로부터의 IFN- 감마 방출 수준을 DAR(V3) 작제물과 비교하여 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 RPMI 8226 세포, K562 세포 및 배지를 나타낸다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR(V2a) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V3) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB, 및 단축된 ITAM 영역을 갖는 CD3제타를 포함한다.

도 23은 CD38 DAR(V2a)을 발현하는 T 세포로부터의 TNF-알파 방출 수준을 DAR (V3) 작제물과 비교하여 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 RPMI 8226 세포, K562 세포 및 배지를 나타낸다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR (V2a) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR (V3) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB, 및 단축된 ITAM 영역을 갖는 CD3제타를 포함한다.

도 24는 CD38 DAR(V2a) 및 DAR(V3) T 세포 중의 기억 T 세포의 분율을 측정하기 위한 유세포분석 연구의 결과를 도시한다. CD38 DAR(V2a) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 긴 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. CD38 DAR(V3) 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB, 및 단축된 ITAM 영역을 갖는 CD3제타를 포함한다.

도 25는 CD38 CAR 작제물을 발현하는 T 세포, CD38 DAR 2세대 작제물을 발현하는 T 세포 및 CD38 DAR 3세대 작제물을 발현하는 T 세포를 비교하는 유세포분석 연구의 결과를 도시한다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. 28Z 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). BBZ 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2a) 작제물). 28BBZ 3세대 작제물은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열, 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2c) 작제물).

도 26은 RPMI 8226 표적 세포에 대한, CD38 CAR, 2가지의 상이한 CD38 2세대 DAR 중 하나, 또는 CD38 3세대 DAR 작제물을 발현하는 T 세포의 세포독성 퍼센트를 나타내는 그래프이다. 음성 대조군(선 A)은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. 28Z 2세대 작제물(선 E)은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). BBZ 2세대 작제물(선 C)은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2a) 작제물). 28BBZ 3세대 작제물(선 D 점선)은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열, 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2c) 작제물). CD38 CAR을 발현하는 세포는 나타내져 있다(선 B).

도 27은 CD38 CAR, 2가지의 상이한 CD38 2세대 DAR 중 하나 또는 CD38 3세대 DAR을 발현하는 T 세포로부터의 IL-2 분비 수준을 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 K562 세포, RPMI 8226 세포 및 T 세포 단독을 나타낸다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. 28Z 2세대 작제물은 짧

은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). BBZ 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2a) 작제물). 28BBZ 3세대 작제물은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열, 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2c) 작제물).

도 28은 CD38 CAR, 2가지의 상이한 CD38 2세대 DAR 중 하나 또는 CD38 3세대 DAR을 발현하는 T 세포로부터의 TNF-알파 분비 수준을 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 K562 세포, RPMI 8226 세포 및 T 세포 단독을 나타낸다. 음성 대조군은 넉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다 28Z 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). BBZ 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2a) 작제물). 28BBZ 3세대 작제물은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열, 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2c) 작제물).

도 29는 CD38 CAR, 2가지 상이한 CD38 2세대 DAR 중 하나 또는 CD38 3세대 DAR을 발현하는 T 세포로부터의 IFN-감마 분비 수준을 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 K562 세포, RPMI 8226 세포 및 T 세포 단독을 나타낸다. 음성 대조군은 넉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다 28Z 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). BBZ 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2a) 작제물). 28BBZ 3세대 작제물은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열, 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2c) 작제물).

도 30은 이종이식 동물 모델에서 평가된 CD38 CAR T 세포의 종양과괴 활성을 도시한다. 음성 대조군 마우스에게는 포스페이트-완충 식염수, 활성화된 T-세포 또는 넉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주가 투여되었다. 시험 마우스에게는 28Z 또는 BBZ 2세대 작제물 또는 3세대 28BBZ DAR 작제물을 발현하는 T 세포가 투여되었다. 28Z DAR 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). BBZ 2세대 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2a) 작제물). 28BBZ 3세대 작제물은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열, 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2c) 작제물).

도 31은 CD38 DAR V2, V3 또는 V4 작제물을 발현하는 T 세포를 비교하는 유세포분석 연구의 결과를 도시한다. 음성 대조군은 활성화된 T 세포 및 넉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주를 포함한다. CD38 V2 DAR 작제물은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). CD38 V3 DAR 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 및 CD3-제타(ITAM 3 모티프만을 가짐) 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V3) 작제물). CD38 DAR V4 작제물은 힌지 서열이 결여되어 있고, 신호전달 영역은 4-1BB 및 CD3-제타(ITAM 3 모티프만을 가짐) 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V4) 작제물).

도 32는 RPMI 8226 표적 세포에 대한, CD38 DAR V2, V3 또는 V4 작제물을 발현하는 T 세포의 세포독성 퍼센트를 나타내는 그래프이다. 음성 대조군(선 A)은 넉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다. CD38 DAR V4 작제물(선 B)은 힌지 서열이 결여되어 있고, 신호전달 영역은 4-1BB 및 CD3-제타(ITAM 3 모티프만을 가짐) 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V4) 작제물). CD38 V2 DAR 작제물(C 점선)은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2a) 작제물). CD38 V3 DAR 작제물(선 D)은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 및 CD3-제타(ITAM 3 모티프만을 가짐) 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V3) 작제물).

도 33은 CD38 DAR V2, V3 또는 V4 작제물을 발현하는 T 세포로부터의 IFN-감마 방출 수준을 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 RPMI 8226 세포, K562 세포 및 배지를 나타낸다. 음성 대조군은 넉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다 CD38 V2 DAR 작제물은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). CD38 V3 DAR 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 및 CD3-제타(ITAM 3 모티프만을 가짐) 신호전달 서열을 포

함한다(예를 들어, DAR(V3) 작제물). CD38 DAR V4 작제물은 힌지 서열이 결여되어 있고, 신호전달 영역은 4-1BB 및 CD3-제타(ITAM 3 모티프만을 가짐) 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V4) 작제물).

도 34는 CD38 DAR V2, V3 또는 V4 작제물을 발현하는 T 세포로부터의 TNF-알파 방출 수준을 나타내는 막대 그래프이다. 각 데이터 세트는 좌측에서 우측으로 RPMI 8226 세포, K562 세포 및 배지를 나타낸다. 음성 대조군은 닉아웃 TRAC 유전자를 보유하는 세포주이다 CD38 V2 DAR 작제물은 짧은 힌지를 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 신호전달 서열 및 CD3제타 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V2b) 작제물). CD38 V3 DAR 작제물은 짧은 힌지 서열을 포함하고, 신호전달 영역은 4-1BB 및 CD3-제타(ITAM 3 모티프만을 가짐) 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V3) 작제물). CD38 DAR V4 작제물은 힌지 서열이 결여되어 있고, 신호전달 영역은 4-1BB 및 CD3-제타(ITAM 3 모티프만을 가짐) 신호전달 서열을 포함한다(예를 들어, DAR(V4) 작제물).

도 35a는 CD38 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물의 상이한 영역들의 아미노산 서열을 도시한다.

도 35b는 CD38 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물 V2b의 제1 폴리펩타이드, 제2 폴리펩타이드 및 전구체 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 도시한다.

도 35c는 CD38 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물 V3의 제1 폴리펩타이드, 제2 폴리펩타이드 및 전구체 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 도시한다.

도 35d는 CD8 힌지 서열과 CD28 힌지 서열을 포함하는 긴 힌지 서열, 및 ITAM 3 모티프만을 갖는 CD3제타 신호전달 영역, CD8 힌지 서열 및 항-CD38 CAR 작제물의 아미노산 서열을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본원에 설명된 세포 및 조직 배양, 분자생물학, 면역학, 미생물학, 유전학, 트랜스제닉 세포 생산, 단백질 화학 및 핵산 화학 및 하이브리드화 기술과 관련된 용어는 당업계에 널리 공지되어 있으며 통상적으로 사용되는 것이다. 본원에 제공된 방법 및 기술은 일반적으로 당업계에 널리 공지된 통상적인 절차에 따라 그리고 달리 지시되지 않는 한 본원에서 인용되고 논의된 다양한 일반적인 및 보다 구체적인 참고문헌에 설명된 바와 같이 수행된다. 예를 들어, 문헌[Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) and Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992)]을 참조한다. 문헌[Borrebaeck (ed) *Antibody Engineering, 2nd Edition* Freeman and Company, NY, 1995; McCafferty et al. *Antibody Engineering, A Practical Approach* IRL at Oxford Press, Oxford, England, 1996; and Paul (1995) *Antibody Engineering Protocols* Humana Press, Towata, N.J., 1995; Paul (ed.), *Fundamental Immunology*, Raven Press, N.Y, 1993; Coligan (1991) *Current Protocols in Immunology* Wiley/Greene, NY; Harlow and Lane (1989) *Antibodies: A Laboratory Manual* Cold Spring Harbor Press, NY; Stites et al. (eds.) *Basic and Clinical Immunology* (4th ed.) Lange Medical Publications, Los Altos, Calif., and references cited therein; *Coding Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* (2nd ed.) Academic Press, New York, N.Y., 1986, 및 Kohler and Milstein *Nature* 256: 495-497, 1975]을 포함하는 다수의 기본 텍스트는 표준 항체 생산 방법을 설명하고 있다. 본원에 인용된 모든 참고문헌은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 효소 반응 및 농축/정제 기술도 널리 공지되어 있으며, 당업계에서 통상적으로 달성되거나 본원에 기재된 바와 같이 제조업자의 사양에 따라 수행된다. 본원에 설명된 분석화학, 합성 유기화학 및 의약 및 약제 화학과 관련하여 사용되는 용어 및 실험실 절차 및 기술은 당업계에 널리 공지되어 있고 일반적으로 사용되는 것이다. 화학 합성, 화학 분석, 약제 조제, 제형화, 전달 및 환자 치료를 위해 표준 기술을 사용할 수 있다.

[0066] 본원에 제공된 표제는 본 명세서를 전체적으로 참조함으로써 이해될 수 있는 본 개시내용의 다양한 측면을 제한하는 것이 아니다.

[0067] 본원에서 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수형 용어는 복수를 포함하고, 복수형 용어는 단수를 포함할 것이다. 단수형 하나(원문의 "a", "an") 및 상기(원문의 "the") 및 임의의 용어의 단수형 사용은 하나의 지시대상에 대해 명시적이고 분명하게 제한되지 않는 한, 복수의 지시대상을 포함한다.

[0068] 본원에서 대안(예를 들어, "또는")의 사용은 대안들 중 하나, 둘 다 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

- [0069] 본원에서 사용된 용어 "및/또는"은 명시된 특징 또는 성분 각각이 다른 하나와 함께 또는 없이 구체적으로 개시된 것으로 고려된다. 예를 들어, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 문구에서 사용된 용어 "및/또는"은 "A 및 B," "A 또는 B," "A"(단독), 및 "B"(단독)을 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 문구에서 사용된 용어 "및/또는"은 하기 각각의 측면을 포함하는 것으로 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).
- [0070] 본원에 사용된 용어 "포함하는", "포함하는", "갖는" 및 "함유하는" 및 이들의 문법적 변형어는, 본원에서 사용되는 바와 같이, 목록의 하나의 항목 또는 다수의 항목이 나열된 항목을 대체할 수 있거나 이에 추가될 수 있는 다른 항목을 제외하지 않도록 비제한적인 것으로 의도된다. 본원에서 측면이 "포함하는"이라는 언어로 설명되는 모든 경우에, "로 이루어지는" 및/또는 "로 본질적으로 이루어지는"의 관점에서 설명된 그 밖의 유사한 측면이 또한 제공되는 것으로 이해된다.
- [0071] 용어 "약"은 당업자에 의해 결정되는 바와 같이 특정한 값 또는 조성에 대해 허용가능한 오차 범위 내에 있는 값 또는 조성을 지칭하며, 이는 부분적으로 상기 값 또는 조성을 측정하거나 결정하는 방법, 즉, 측정 시스템의 제약에 따라 좌우될 것이다. 예를 들어, "약" 또는 "대략"은 당업계의 관행에 따라 1 이내 또는 1 초과의 표준 편차를 의미할 수 있다. 대안적으로, "약" 또는 "대략"은 측정 시스템의 한계에 따라 최대 10%(즉, ±10%) 또는 그 이상의 범위를 의미할 수 있다. 예를 들어, 약 5 mg은 4.5 mg과 5.5 mg 사이의 임의의 수를 포함할 수 있다. 더욱이, 특히 생물학적 시스템 또는 과정과 관련하여, 상기 용어들은 값의 한 자릿수까지 또는 5배까지를 의미할 수 있다. 본 개시내용에 특정한 값 또는 조성이 제공되는 경우, 달리 명시되지 않는 한, "약" 또는 "대략"의 의미는 상기 특정한 값 또는 조성에 대해 허용가능한 오차 범위 내에서 추정되어야 한다.
- [0072] 용어 "펩타이드", "폴리펩타이드" 및 "단백질" 및 본원에서 사용되는 다른 관련 용어들은 상호교환적으로 사용되고 아미노산의 중합체를 지칭하며 임의의 특정 길이로 제한되지 않는다. 폴리펩타이드는 천연 및 비천연 아미노산을 포함할 수 있다. 폴리펩타이드는 제조합 또는 화학적으로 합성된 형태를 포함한다. 폴리펩타이드는 또한, 단백질분해성 절단, T2A 리보솜 스킵핑(ribosomal skipping)으로 인한 절단, 하이드록실화, 메틸화, 지질화, 아세틸화, 수모화(SUMOylation), 유비퀴틴화, 글리코실화, 인산화 및/또는 디설파이드 결합 형성과 같은 번역 후 변형을 아직 거치지 않은 전구체 분자를 포함한다. 이들 용어는 천연 및 인공 단백질, 단백질 단편 및 단백질 서열의 폴리펩타이드 유사체(예컨대, 뮤테인, 변이체, 키메라 단백질 및 융합 단백질)뿐만 아니라, 번역 후 또는 그 밖의 공유결합적으로 또는 비공유결합적으로 변형된 단백질도 포함한다. 2개의 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.
- [0073] 용어 "핵산", "폴리뉴클레오타이드" 및 "올리고뉴클레오타이드" 및 본원에서 사용되는 다른 관련 용어들은 상호교환적으로 사용되고 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭하며 임의의 특정 길이로 제한되지 않는다. 핵산은 제조합 및 화학적으로 합성된 형태를 포함한다. 핵산은 DNA 분자(cDNA 또는 게놈 DNA), RNA 분자(예를 들어, mRNA), 뉴클레오타이드 유사체(예를 들어, 펩타이드 핵산 및 비천연 발생 뉴클레오타이드 유사체)를 사용하여 생성한 DNA 또는 RNA의 유사체 및 이들의 하이브리드를 포함한다. 핵산 분자는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다. 일 실시형태에서, 본 개시내용의 핵산 분자는 항체 또는 이의 단편 또는 scFv, 유도체, 뮤테인 또는 변이체를 암호화하는 인접 오픈 리딩 프레임(open reading frame)을 포함한다. 일 실시형태에서, 핵산은 한 가지 유형의 폴리뉴클레오타이드 또는 2가지 이상의 상이한 유형의 폴리뉴클레오타이드의 혼합물을 포함한다. 이량체 항원 수용체를 암호화하는 핵산이 본원에서 설명된다.
- [0074] 항원 결합 단백질은 예를 들어, 면역글로불린의 구조를 가질 수 있다. 일 실시형태에서, "면역글로불린"은 각 쌍이 하나의 "경"쇄(약 25 kDa) 및 하나의 "중"쇄(약 50 내지 70 kDa)를 갖는 2쌍의 동일한 폴리펩타이드 쇄로 구성된 사량체 분자를 지칭한다. 각 쇄의 아미노-말단 부분은 주로 항원 인식을 책임지는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 각 쇄의 카복시-말단 부분은 주로 이펙터 기능을 책임지는 불변 영역을 정의한다. 사람 경쇄는 카파 또는 람다 경쇄로 분류된다. 중쇄는 뮤(mu), 델타(delta), 감마(gamma), 알파(alpha) 또는 엡실론(epsilon)으로 분류되고, 항체의 아이소타입(isotype)을 각각 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE 로서 정의한다. 경쇄 및 중쇄 내에서, 가변 영역과 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 연결되고, 중쇄는 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 또한 포함한다. 일반적으로, (모든 목적을 위해 그 전체가 참고로 포함되는) 문헌[Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))]을 참조한다. 각 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역은 온전한 면역글로불린이 2개의 결합 부위를 가지도록 항체 결합 부위를 형성한다. 일 실시형태에서, 항원 결합 단백질은 사량체 면역글로불린 분자와 상이하지만 여전히 표적 항원에 결합하거나 2가지 이상의 표적 항원에 결합하는 구조를 갖는 합성 분자일 수 있다. 예를 들어, 합성 항원 결합 단백질은 항체 단편, 1 내지 6개 이상의 폴리펩타이드 쇄, 폴리펩타이드의 비대칭 조립체 또는 다

른 합성 분자를 포함할 수 있다. 표적 항원에 특이적으로 결합하는 면역글로불린-유사 특성을 갖는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.

[0075] "항체" 및 "항체들" 및 본원에서 사용되는 관련 용어들은 온전한 면역글로불린을 지칭하거나, 항원에 특이적으로 결합하는 이의 항원 결합 부분을 지칭한다. 항원 결합 부분은 제조법 DNA 기술에 의해 또는 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다. 항원 결합 부분은 특히, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 도메인 항체(dAb) 및 상보성 결정 영역(CDR) 단편, 단일쇄 항체(scFv), 키메라 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 및 폴리펩타이드에 대한 특이적 항원 결합을 부여하기에 충분한 면역글로불린의 적어도 일부분을 함유하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0076] 항체는 제조법에 의해 생산된 항체 및 항원 결합 부위를 포함한다. 항체는 비-사람, 키메라, 사람화 및 완전 사람 항체를 포함한다. 항체는 단일특이적, 다중특이적(예를 들어, 이중특이적, 삼중특이적 및 보다 고차의 특이성) 항체를 포함한다. 항체는 사량체 항체, 경쇄 단량체, 중쇄 단량체, 경쇄 이량체, 중쇄 이량체를 포함한다. 항체는 F(ab')₂ 단편, Fab' 단편 및 Fab 단편을 포함한다. 항체는 단일 도메인 항체, 일가 항체, 단일쇄 항체, 단일쇄 가변 단편(scFv), 낙타화(camelized) 항체, 에피바디(affibody), 이황화-결합된 Fvs(sdFv), 항-이디오타입 항체(항-Id), 미니바디를 포함한다. 항체는 모노클로날 집단 및 폴리클로날 집단을 포함한다. 항체처럼 작용하는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.

[0077] "항원 결합 도메인," "항원 결합 영역" 또는 "항원 결합 부위" 및 본원에서 사용되는 다른 관련 용어들은 항원과 상호작용하고 항원 결합 단백질의 특이성 및 항원에 대한 친화성에 기여하는 아미노산 잔기(또는 다른 모이어티(moiety))를 함유하는 항원 결합 단백질의 일부분이다. 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 경우, 이것은 이의 CDR 도메인들 중 적어도 하나의 적어도 일부분을 포함할 것이다. 항원 결합 도메인을 형성하는 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역을 갖는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.

[0078] 항체 또는 항원 결합 단백질 또는 항체 단편과 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "특이적 결합", "특이적으로 결합하다" 또는 "특이적으로 결합하는" 및 다른 관련 용어들은 다른 분자 또는 모이어티에 비해 우선적인, 항원에 대한 비공유 또는 공유 결합(예를 들어, 항체는 다른 이용 가능한 항원에 비해 특정 항원에 특이적으로 결합한다)을 지칭한다. 일 실시형태에서, 항체가 10⁻⁵ M 이하, 또는 10⁻⁶ M 이하, 또는 10⁻⁷ M 이하, 또는 10⁻⁸ M 이하, 또는 10⁻⁹ M 이하, 또는 10⁻¹⁰ M 이하의 해리 상수 K_D로 표적 항원에 결합한다면, 항체는 그 항원에 특이적으로 결합한다. 표적 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.

[0079] 일 실시형태에서, 해리 상수(K_D)는 BIACORE 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정을 사용하여 측정될 수 있다. 표면 플라즈몬 공명은 예를 들어 BIACORE 시스템(뉴저지주 피스카타웨이 소재의 GE Healthcare의 Biacore Life Sciences 부서)을 사용하여 바이오센서 매트릭스 내의 단백질 농도의 변화를 검출하여 실시간 상호작용을 분석할 수 있는 광학 현상을 지칭한다.

[0080] "에피토프" 및 본원에서 사용되는 관련 용어들은 항원 결합 단백질에 의해(예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 부분에 의해) 결합되는 분자의 부분이다. 에피토프는 항원 결합 단백질에 의해 결합되는 2가지 이상의 항원의 부분을 포함할 수 있다. 에피토프는 항체 또는 2가지 이상의 항원의 비-인접 부분(예를 들면, 항원의 1차 서열에서는 인접하지 않지만, 항원의 3차 및 4차 구조의 상황에서 항원 결합 단백질에 의해 서로 결합되기에 충분히 가까운 아미노산 잔기)을 포함할 수 있다. 일반적으로, 항체의 가변 영역, 특히 CDR은 에피토프와 상호작용한다. 표적 항원(예를 들어, CD38)의 에피토프에 결합하는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.

[0081] "항체 단편", "항체 부분", "항체의 항원-결합 단편" 또는 "항체의 항원-결합 부분" 및 본원에서 사용되는 다른 관련 용어들은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부분을 포함하는, 온전한 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예로는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; Fd; 및 Fv 단편뿐만 아니라 dAb; 디아바디; 선형 항체; 단일쇄 항체 분자(예를 들어, scFv); 폴리펩타이드에 대한 특이적 항원 결합을 부여하기에 충분한 항체의 적어도 일부분을 함유하는 폴리펩타이드가 포함되나 이에 한정되지는 않는다. 항체의 항원 결합 부분은 제조법 DNA 기술에 의해 또는 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다. 항원 결합 부분은 특히, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 도메인 항체(dAb) 및 상보성 결정 영역(CDR) 단편, 키메라 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 및 폴리펩타이드에 대한 항원 결합 특성을 부여하기에 충분한 면역글로불린의 적어도 일부분을 함유하는 폴리펩타이드를 포함한다. 힌지, 막관통 영역 및 세포내 신호전달 영역에 연결된 Fab

단편을 포함하는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.

[0082] 용어 "Fab", "Fab 단편" 및 다른 관련 용어들은 가변 경쇄 영역(V_L), 불변 경쇄 영역(C_L), 가변 중쇄 영역(V_H) 및 제1 불변 영역(CH_1)을 포함하는 1가 단편을 지칭한다. Fab는 항원에 결합할 수 있다. $F(ab')_2$ 단편은 힌지 영역에서 이황화 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편이다. $F(ab')_2$ 는 항원 결합 능력을 갖는다. Fd 단편은 V_H 영역 및 C_H1 영역을 포함한다. Fv 단편은 V_L 영역 및 V_H 영역을 포함한다. Fv는 항원에 결합할 수 있다. dAb 단편은 V_H 도메인, V_L 도메인 또는 V_H 또는 V_L 도메인의 항원-결합 단편을 갖는다(미국 특허 제 6,846,634호 및 제6,696,245호; 미국 공개 출원 제2002/02512호, 제2004/0202995호, 제2004/0038291호, 제2004/0009507호, 제2003/0039958호; 및 Ward et al., Nature 341:544-546, 1989). 힌지, 막관통 및 세포내 신호전달 영역에 연결된 Fab 단편을 포함하는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.

[0083] 용어 "사람 항체"는 사람 면역글로불린 서열로부터 유래된 하나 이상의 가변 영역 및 불변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 일 실시형태에서, 모든 가변 도메인 및 불변 도메인은 사람 면역글로불린 서열(예를 들어, 완전 사람 항체)로부터 유래된다. 이들 항체는 제조법 방법론을 통한 또는 사람 중쇄 및/또는 경쇄-암호화 유전자로부터 유래된 항체를 발현하도록 유전적으로 변형된 마우스의 관심대상 항원을 이용한 면역화를 통한 방식을 포함하여, 그 예가 하기 설명되는 다양한 방식으로 제조될 수 있다. 완전 사람 항체 중쇄 가변 영역 및 완전 사람 항체 경쇄 가변 영역을 포함하는 이량체 항원 수용체가 본원에서 설명된다.

[0084] 용어 "힌지"는 일반적으로 단백질의 두 도메인 사이에서 발견되는 아미노산 분절을 지칭하며, 전체 작제물의 유연성 및 도메인 중 하나 또는 둘 다의 서로에 대한 이동을 가능하게 할 수 있다. 구조적으로, 힌지 영역은 약 10 내지 약 100개 아미노산, 예를 들어 약 15 내지 약 75개 아미노산, 약 20 내지 약 50개 아미노산, 또는 약 30 내지 약 60개 아미노산을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 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, 75, 80, 85, 90, 95개 또는 100개 아미노산 길이이다. 유래될 수 있는 힌지 영역은 CD8 힌지 영역 또는 이의 단편, CD8 α 힌지 영역 또는 이의 단편, 항체(예를 들어, IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD 항체)의 힌지 영역, 또는 항체의 불변 도메인 CH1 및 CH2를 연결시키는 힌지 영역과 같은 천연 발생 단백질의 힌지 영역이다. 힌지 영역은 항체로부터 유래될 수 있고, 항체의 하나 이상의 불변 영역을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있거나, 힌지 영역은 항체의 힌지 영역 및 항체의 CH3 불변 영역을 포함하거나, 힌지 영역은 항체의 힌지 영역 및 항체의 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함하거나, 힌지 영역은 비-천연 발생 펩타이드이거나, 힌지 영역은 scFv의 C-말단과 막관통 도메인의 N-말단 사이에 배치된다.

[0085] 용어 "리더 서열" 또는 "리더 펩타이드" 또는 "펩타이드 신호 서열" 또는 "신호 펩타이드"는 폴리펩타이드의 N-말단에 위치하는 펩타이드 서열을 지칭한다. 리더 서열은 폴리펩타이드 쇄가 세포 분비 경로 쪽으로 지시하고 폴리펩타이드의 세포막의 지질 이중층으로의 통합 및 고정(anchoring)을 지시할 수 있다. 전형적으로 리더 서열은 약 10 내지 50개 아미노산 길이이다. 리더 서열은 세포질로부터 소포체로의 전구체 폴리펩타이드 수송을 지시할 수 있다. 리더 서열은 CD8 α , CD28 또는 CD16 리더 서열을 포함하는 신호 서열을 포함한다.

[0086] 용어 "키메라 항원 수용체" 또는 "CAR"은 세포내 신호전달 도메인에 융합된 세포외 항원-결합 단백질을 포함하는 단일쇄 융합 단백질을 지칭한다. CAR 세포외 결합 도메인은 사람 모노클로날 항체와 같은 모노클로날 항체의 가변 중쇄 영역과 가변 경쇄 영역을 융합함으로써 유도된 단일쇄 가변 단편(scFv 또는 sFv)이다. 개시된 작제물은 DAR인데, 이는 DAR이 표적화를 위해 단일쇄 항체를 사용하지 않고 대신에 별개의 중쇄 가변 도메인 영역과 경쇄 가변 도메인 영역을 사용한다는 점에서 CAR과 구별된다.

[0087] "백터" 및 본원에서 사용되는 관련 용어들은 외래 유전자 물질(예를 들어, 핵산 전이유전자)에 작동 가능하게 연결될 수 있는 핵산 분자(예를 들어, DNA 또는 RNA)를 지칭한다. 백터는 외래 유전자 물질을 세포(예를 들어, 숙주 세포) 내로 도입하기 위한 비히클로서 사용될 수 있다. 백터는 백터 내로 전이유전자를 삽입하기 위한 적어도 하나의 제한 엔도뉴클레아제 인식 서열을 포함할 수 있다. 백터는 항생제 내성을 부여하는 적어도 하나의 유전자 서열 또는 백터-전이유전자 작제물을 보유하는 숙주 세포의 선택을 돕는 선택 가능한 특성을 포함할 수 있다. 백터는 단일 가닥 또는 이중 가닥의 핵산 분자일 수 있다. 백터는 선형 또는 환형 핵산 분자일 수 있다. 징크 핑거 뉴클레아제, TALEN 또는 CRISPR/Cas를 사용하는 유전자 편집 방법에 사용되는 공여 핵산이 백터의 한 유형일 수 있다. 백터의 한 유형은, 전이유전자에 연결될 수 있으며 숙주 세포에서 복제되어 전이유전자를 전사 및/또는 번역할 수 있는 선형 또는 원형 이중 가닥 염색체의 DNA 분자를 지칭하는 "플라스미드"이다. 바이러스 백터는 전형적으로 전이유전자에 연결될 수 있는 바이러스 RNA 또는 DNA 백본 서열을 함유한다. 바이러스 백본

서열은 감염을 불가능하게 하지만 바이러스 핵본 및 공동연결된 전이유전자의 숙주 세포 계능 내로의 삽입을 유지하도록 변형될 수 있다. 바이러스 벡터의 예로는 레트로바이러스, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 아데노-관련, 배클로바이러스, 파포바이러스, 백시니아 바이러스, 단순포진 바이러스 및 엡스타인 바(Epstein Barr) 바이러스 벡터가 포함된다. 특정의 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포 내에서 자율적으로 복제할 수 있다(예를 들어, 세균 복제 기점을 포함하는 세균 벡터 및 에피솜 포유동물 벡터). 다른 벡터(예를 들어, 비-에피솜 포유동물 벡터)는 숙주 세포 내로 도입시 숙주 세포의 계능 내로 통합되어 상기 숙주 계능과 함께 복제된다.

[0088] "발현 벡터"는, 유도성 및/또는 항시성 프로모터 및 인핸서와 같은 하나 이상의 조절 서열을 함유할 수 있는 벡터의 한 유형이다. 발현 벡터는 리보솜 결합 부위 및/또는 폴리아데닐화 부위를 포함할 수 있다. 조절 서열은 숙주 세포 내로 형질도입되는 발현 벡터에 연결된 전이유전자의 전사 또는 전사 및 번역을 지시한다. 조절 서열(들)은 전이유전자의 발현 수준, 시기 및/또는 위치를 제어할 수 있다. 조절 서열은 예를 들어 전이유전자에 대해 직접적으로 또는 하나 이상의 다른 분자(예를 들어, 조절 서열 및/또는 핵산에 결합하는 폴리펩타이드)의 작용을 통해 이의 효과를 발휘한다. 조절 서열은 벡터의 일부일 수 있다. 조절 서열의 추가 예는 예를 들어, 문헌 [Goeddel, 1990, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. and Baron et al., 1995, Nucleic Acids Res. 23:3605-3606]에 기재되어 있다. 이량체 항원 수용체를 암호화하는 핵산을 포함하는 발현 벡터가 본원에서 설명된다.

[0089] 전이유전자는 벡터에 함유된 전이유전자 서열의 기능 또는 발현을 허용하기 위해 전이유전자와 벡터 사이에 연결이 있을 때 벡터에 "작동 가능하게 연결된다". 일 실시형태에서, 전이유전자는, 조절 서열이 전이유전자의 발현(예를 들어, 발현 수준, 시기 또는 위치)에 영향을 미칠 때 상기 조절 서열에 "작동 가능하게 연결된다".

[0090] 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 또는 본원에서 사용되는 다른 관련 용어들은 외인성 핵산(예를 들어, 전이유전자)이 숙주 세포로 전달되거나 도입되는 과정을 지칭한다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 숙주 세포는 외인성 핵산(전이유전자)으로 형질감염되거나 형질전환되거나 또는 형질도입된 것이다. 숙주 세포는 1차 대상체 세포 및 이의 자손을 포함한다. 임의의 이량체 항원 수용체의 적어도 일부분을 암호화하는 외인성 핵산이 본원에서 설명되며 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 본원에서 설명되는 임의의 이량체 항원 수용체의 적어도 일부분을 포함하는 발현 벡터는 숙주 세포 내로 도입될 수 있고, 숙주 세포는 이량체화되어 본원에서 설명되는 이량체 항원 수용체를 형성하는 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 발현할 수 있다.

[0091] 용어 "숙주 세포" 또는 "또는 숙주 세포 집단" 또는 본원에서 사용되는 관련 용어들은 외래(외인성 또는 전이유전자) 핵산이 도입된 세포(또는 이의 집단)를 지칭한다. 외래 핵산은 전이유전자에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 포함할 수 있으며, 숙주 세포는 핵산 및/또는 외래 핵산(전이유전자)에 의해 암호화된 폴리펩타이드를 발현하기 위해 사용될 수 있다. 숙주 세포(또는 이의 집단)는 배양된 세포일 수 있거나 대상체로부터 추출될 수 있다. 숙주 세포(또는 이의 집단)는 계대의 횟수에 관계 없이 1차 대상체 세포 및 이의 자손을 포함한다. 숙주 세포(또는 이의 집단)는 불멸화된 세포주를 포함한다. 자손 세포는 모 세포와 비교하여 동일한 유전 물질을 보유하거나 보유하지 않을 수 있다. 숙주 세포는 자손 세포를 포괄한다. 일 실시형태에서, 숙주 세포는 본원에 개시된 바와 같이 항체를 발현하기 위해 임의의 방식으로 변형, 형질감염, 형질도입, 형질전환 및/또는 조작된 임의의 세포(이의 자손을 포함)를 설명한다. 일례로, 숙주 세포(또는 이의 집단)에는 본원에 기재된 원하는 항체 또는 이의 항원 결합 부분을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터가 도입될 수 있다. 숙주 세포 및 이의 집단은 숙주의 계능 내로 안정적으로 통합된 발현 벡터를 보유할 수 있거나 염색체의 발현 벡터를 보유할 수 있다. 일 실시형태에서, 숙주 세포 및 이의 집단은 몇회의 세포 분열 후에 존재하거나 일시적으로 존재하고 몇회의 세포 분열 후에 소실되는 염색체의 벡터를 보유할 수 있다.

[0092] 숙주 세포는 원핵생물, 예를 들어 이. 콜라이(*E. coli*)일 수 있거나, 진핵 세포, 예를 들어, 단세포 진핵생물(예를 들어, 효모 또는 다른 진균류), 식물 세포(예를 들어, 담배 또는 토마토 식물 세포), 포유동물 세포(예를 들어, 사람 세포, 원숭이 세포, 햄스터 세포, 래트 세포, 마우스 세포 또는 곤충 세포) 또는 하이브리도마일 수 있다. 일 실시형태에서, 숙주 세포에 원하는 항체를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 도입함으로써 형질감염/형질전환된 숙주 세포를 생성하고, 이를 형질감염/형질전환된 숙주 세포에 의한 항체 발현에 적합한 조건 하에 배양하고 임의로 형질감염/형질전환된 숙주 세포로부터 항체를 회수(예를 들어, 숙주 세포 용해물로부터 회수)할 수 있다. 일 실시형태에서, 숙주 세포는 CHO, BHK, NSO, SP2/0 및 YB2/0을 포함하는 비-사람 세포를 포함한다. 일 실시형태에서, 숙주 세포는 HEK293, HT-1080, Huh-7 및 PER.C6을 포함하는 사람 세포를 포함한다. 숙주 세포의 예로는 원숭이 신장 세포의 COS-7 세포주(ATCC CRL 1651)(참조: Gluzman et al., 1981,

Cell 23:175), L 세포, C127 세포, 3T3 세포(ATCC CCL 163), 차이나이즈 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 이들의 유도체, 예컨대 Veggie CHO 및 혈청-비함유 배지에서 성장하는 관련 세포주(참조: Rasmussen et al., 1998, Cytotechnology 28:31) 또는 DHFR이 결핍된 CHO 스트레인 DX-B11(참조: Urlaub et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-20), HeLa 세포, BHK(ATCC CRL 10) 세포주, 아프리카 녹색 원숭이(African green monkey) 신장 세포주 CV1로부터 유도된 CV1/EBNA 세포주(ATCC CCL 70)(참조: McMahan et al., 1991, EMBO J. 10:2821), 사람 배아 신장 세포, 예컨대 293, 293 EBNA 또는 MSR 293, 사람 표피 A431 세포, 사람 Colo205 세포, 다른 형질전환된 영장류 세포주, 정상 이배체 세포, 1차 조직의 시험관내 배양으로부터 유도된 세포 스트레인, 1차 외식편(explant), HL-60, U937, HaK 또는 저캣(Jurkat) 세포가 포함된다. 일 실시형태에서, 숙주 세포는 YO, NSO 또는 Sp20과 같은 림프계 세포를 포함한다. 일 실시형태에서, 숙주 세포는 포유동물 숙주 세포이지만, 사람 숙주 세포는 아니다. 전형적으로, 숙주 세포는, 이후 숙주 세포에서 발현될 수 있는 폴리펩타이드-암호화 핵산으로 형질전환되거나 형질감염될 수 있는 배양된 세포이다. 어구 "트랜스제닉 숙주 세포" 또는 "재조합 숙주 세포"는 발현될 핵산으로 도입된(예를 들어, 형질전환되거나 형질감염된) 숙주 세포를 나타내는데 사용될 수 있다. 또한, 숙주 세포는 핵산을 포함하지만, 조절 서열이 숙주 세포 내로 도입되어, 핵산과 작동가능하게 연결되지 않는 한 이를 원하는 수준으로 발현시키지 않는 세포일 수 있다. 용어 숙주 세포는 특정 대상체 세포뿐만 아니라 이러한 세포의 자손 또는 잠재적 자손도 지칭하는 것으로 이해된다. 예를 들면, 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 특성의 변형이 다음 세대에서 발생할 수 있기 때문에, 이러한 자손은 사실상 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 이는 여전히 본원에서 사용된 용어의 범위 내에 포함된다.

[0093] 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 T 림프구(예를 들어, T 세포, 조절 T 세포, 감마-델타 T 세포 및 세포독성 T 세포), NK(자연 살해) 세포, 대식세포, 수지상세포, 비만세포, 호산구, B 림프구, 단핵구를 포함한다. 일 실시형태에서, NK 세포는 제대혈 유래의 NK 세포 또는 태반 유래의 NK 세포를 포함한다.

[0094] 트랜스제닉 숙주 세포는 징크 핑거 뉴클레아제, TALENS 또는 CRISPR/Cas를 포함하는 널리 공지된 디자이너 뉴클레아제를 포함하는 비-바이러스성 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 징크 핑거 뉴클레아제와 같은 게놈 편집 기술을 사용하여 전이유전자를 숙주 세포의 게놈 내로 도입할 수 있다. 징크 핑거 뉴클레아제는 조작된 징크 핑거 모터프로부터의 DNA-결합 도메인에 융합된 제한 엔도뉴클레아제(예를 들어, FokI)의 비특이적 엔도뉴클레아제 도메인을 각각 함유하는 한 쌍의 키메라 단백질을 포함한다. DNA 결합 도메인은 숙주 게놈의 특정 서열에 결합하도록 조작될 수 있으며 엔도뉴클레아제 도메인은 이중 가닥 절단을 만든다. 공여 DNA는 전이유전자, 예를 들어 본원에 설명된 CAR 또는 DAR 작제물을 암호화하는 임의의 핵산, 및 숙주 세포 게놈에서 의도된 삽입 부위의 양쪽에 있는 영역에 상동인 플랭킹 서열을 운반한다. 숙주 세포의 DNA 복구 기구는 상동성 DNA 복구에 의해 전이유전자의 정확한 삽입을 가능하게 한다. 트랜스제닉 포유동물 숙주 세포는 징크 핑거 뉴클레아제를 사용하여 생성되었다(미국 특허 제9,597,357호, 제9,616,090호, 제9,816,074호 및 제8,945,868호). 트랜스제닉 숙주 세포는 정확한 전이유전자 삽입을 전달할 수 있는 DNA 결합 도메인에 융합된 비특이적 엔도뉴클레아제 도메인을 포함한다는 점에서 징크 핑거 뉴클레아제와 유사한 TALEN(전사 활성화인자-유사 이펙터 뉴클레아제)을 사용하여 생성할 수 있다. 징크 핑거 뉴클레아제와 마찬가지로, TALEN도 숙주의 DNA 내로 이중 가닥 절단을 도입한다. 트랜스제닉 숙주 세포는 CRISPR(규칙적인 간격을 갖는 짧은 회문구조 반복단위: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)을 사용하여 생성할 수 있다. CRISPR은 표적 특이적 공여 DNA 통합을 위해 가이드 RNA에 커플링된 Cas 엔도뉴클레아제를 사용한다. 가이드 RNA는 표적 DNA에서 gRNA-결합 영역의 업스트림의 프로토스페이서 인접 모티프(PAM) 서열을 함유하는 보존된 다중-뉴클레오타이드를 포함하고, Cas 엔도뉴클레아제가 이중 가닥 표적 DNA를 절단하는 숙주 세포 표적 부위에 하이브리드화한다. 가이드 RNA는 특이적 표적 부위에 하이브리드화하도록 설계할 수 있다. 징크 핑거 뉴클레아제 및 TALEN과 유사하게, CRISPR/Cas 시스템은 삽입 부위와 상동성을 갖는 플랭킹 서열을 갖는 공여 DNA의 부위 특이적 삽입을 도입하기 위해 사용할 수 있다. 게놈을 변형시키는데 사용되는 CRISPR/Cas 시스템의 예는, 예를 들어, 미국 특허 제8,697,359호, 제10,000,772호, 제9,790,490호 및 미국 특허 출원 공보 제US 2018/0346927호에 설명되어 있다. 일 실시형태에서, 트랜스제닉 숙주 세포는 징크 핑거 뉴클레아제, TALEN 또는 CRISPR/Cas 시스템을 사용하여 생성될 수 있고, 숙주 표적 부위는 TRAC 유전자(T 세포 수용체 알파 불변)일 수 있다. 공여 DNA는 예를 들어, 본원에 기재된 CAR 또는 DAR 작제물을 암호화하는 임의의 핵산을 포함할 수 있다. 전기천공, 뉴클레오펙션 또는 리포펙션은 징크 핑거 뉴클레아제, TALEN 또는 CRISPR/Cas 시스템을 이용하여 공여 DNA를 숙주 세포로 공동전달하는데 사용할 수 있다.

[0095] 트랜스제닉 숙주 세포는 CAR 또는 DAR 작제물을 보유하는 레트로바이러스 벡터로 T 세포를 형질도입함으로써 생성할 수 있다. 형질도입은 본질적으로 문헌[Ma et al., 2004 *The Prostate* 61:12-25; and Ma et al., *The Prostate* 74(3):286-296, 2014 (이의 개시내용은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다)]에 설명된 바와 같이 수행

할 수 있다. 항-CD38 CAR 또는 DAR MFG 레트로바이러스 벡터 플라스미드 DNA는 FuGene 시약(Promega, Madison, WI)을 사용하여 Phoenix-Eco 세포주(ATCC)로 형질감염시켜 동종지향성(Ecotropic) 레트로바이러스를 생산한 다음, 일시적인 바이러스 상청액(동종지향성 바이러스)를 수거하고 이를 사용하여 Gal-V 외피로 PG13 패키징 세포를 형질도입하여 레트로바이러스를 생성하여 사람 세포를 감염시킬 수 있다. PG13 세포로부터의 바이러스 상청액은 CD3 또는 CD3/CD28 활성화한지 2 내지 3일 후에 활성화된 T 세포(또는 PBMC)를 형질도입하는데 사용할 수 있다. 활성화된 사람 T 세포는 2일 동안 제조업체의 설명서에 따라 100 ng/ml 마우스 항-사람 CD3 항체 OKT3(Orth Biotech, Raritan, NJ) 또는 항-CD3, 항-CD28 TransAct(Miltenyi Biotech, German) 및 5% FBS가 보충된 AIM-V 성장 배지(GIBCO-Thermo Fisher Scientific, 매사추세츠주 월섬) 중의 300 내지 1000 U/ml IL2로 정상의 건강한 공여자 말초혈 단핵 세포(PBMC)를 활성화시켜 생성할 수 있다. 약 5×10^6 개의 활성화된 사람 T 세포를 10 μ g/ml 레트로벡틴(Takara Bio USA) 사전 코팅된 6웰 플레이트에서 3ml 바이러스 상청액으로 형질도입시키고 약 32°C에서 약 1시간 동안 1000g로 원심분리할 수 있다. 형질도입 후, 형질도입된 T 세포는 5% FBS 및 300 내지 1000 U/ml IL2가 보충된 AIM-V 성장 배지에서 증대시킬 수 있다.

[0096] 본 개시내용의 폴리펩타이드(예를 들어, 항체 및 항원 결합 단백질)는 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 생산될 수 있다. 일례로, 폴리펩타이드는, 이 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열(예를 들어, DNA)을 재조합 발현 벡터에 삽입하고 이를 숙주 세포 내로 도입하고 발현을 촉진하는 조건 하에 숙주 세포에 의해 발현시키는 재조합 핵산 방법에 의해 생산된다.

[0097] 재조합 핵산 조작을 위한 일반적인 기술은 예를 들면, 본원에 그 전체가 참조로 포함된 문헌[Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2 ed., 1989, 또는 F. Ausubel et al., in *Current Protocols in Molecular Biology* (Green Publishing and Wiley-Interscience: New York, 1987)] 및 주기적 업데이트에 설명되어 있다. 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산(예를 들어, DNA)은 포유동물, 바이러스 또는 곤충 유전자로부터 유래된 하나 이상의 적합한 전사 또는 번역 조절 요소를 보유한 발현 벡터에 작동 가능하게 연결된다. 이러한 조절 요소로는 전사 프로모터, 전사를 제어하기 위한 임의의 작동자(operator) 서열, 적합한 mRNA 리보솜 결합 부위를 암호화하는 서열, 및 전사 및 번역의 종료를 제어하는 서열이 포함된다. 발현 벡터는 숙주 세포에서 복제 능력을 부여하는 복제 기점을 포함할 수 있다. 발현 벡터는 트랜스제닉 숙주 세포(형질전환체(transformant))의 인식을 용이하게 하는 선택을 부여하는 유전자를 포함할 수 있다.

[0098] 재조합 DNA는 또한 단백질을 정제하는데 유용할 수 있는 임의의 유형의 단백질 태그 서열을 암호화할 수 있다. 단백질 태그의 예로는 히스티딘 태그, FLAG 태그, myc 태그, HA 태그 또는 GST 태그가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 세균, 진균, 효모 및 포유동물 세포 숙주와 함께 사용하기에 적절한 클로닝 벡터 및 발현 벡터는 문헌[Cloning Vectors: A Laboratory Manual, (Elsevier, N.Y., 1985)]에서 찾아볼 수 있다.

[0099] 발현 벡터 작제물은 숙주 세포에 대해 적절한 방법을 사용하여 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 전기천공; 염화갈슘, 염화루비듐, 인산갈슘, DEAE-덱스트란, 또는 다른 물질을 사용한 형질감염; 바이러스 형질감염; 비-바이러스 형질감염; 미세사출법(microprojectile bombardment); 리포펙션; 및 감염(예를 들어, 벡터가 감염원(infectious agent)인 경우)을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 숙주 세포 내로 핵산을 도입시키기 위한 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있다. 적합한 숙주 세포로는 원핵생물, 효모, 포유동물 세포 또는 세균 세포가 포함된다.

[0100] 적합한 세균은 그람 음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들면, 이. 콜라이 또는 바실러스 종(*Bacillus* spp.)을 포함한다. 사카로마이세스(*Saccharomyces*) 종, 예컨대 에스. 세레비시아에(*S. cerevisiae*) 유래의 효모와 같은 효모도 폴리펩타이드의 생성에 사용될 수 있다. 다양한 포유동물 또는 곤충 세포 배양 시스템이 또한 재조합 단백질을 발현시키는데 사용될 수 있다. 곤충 세포에서의 이종 단백질의 생성을 위한 배콜로바이러스 시스템은 문헌[Luckow and Summers, (*Bio/Technology*, 6:47, 1988)]에 의해 검토되어 있다. 적합한 포유동물 숙주 세포의 예로는 내피 세포, COS-7 원숭이 신장 세포, CV-1, L 세포, C127, 3T3, 차이니스 햄스터 난소(CHO), 사람 배아 신장 세포, HeLa, 293, 293T 및 BHK 세포주가 포함된다. 정제된 폴리펩타이드는 재조합 단백질을 발현시키는데 적합한 숙주/벡터 시스템을 배양함으로써 생성된다. 그 다음, 단백질은 배양 배지 또는 세포 추출물로부터 정제된다. 이량체 항원 수용체를 형성하는 임의의 제1 폴리펩타이드 및 폴리펩타이드 제2 폴리펩타이드는 트랜스제닉 숙주 세포에 의해 발현될 수 있다.

[0101] 본원에 개시된 항체 및 항원 결합 단백질은 또한 세포-번역 시스템을 사용하여 생성될 수 있다. 이러한 목적을 위해, 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산은 시험관내 전사에서 mRNA를 생성시키는 것을 가능하게 하고, 사용되는

특정 세포-비함유 시스템(포유동물 또는 효모 세포-비함유 번역 시스템과 같은 진핵 세포, 또는 세균 세포-비함유 번역 시스템과 같은 원핵 세포)에서의 mRNA의 세포-비함유 번역을 가능하게 하도록 변형되어야 한다.

- [0102] 본원에 개시된 다양한 폴리펩타이드 중 임의의 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산은 화학적으로 합성될 수 있다. 코돈 사용은 세포에서의 발현을 개선시키도록 선택될 수 있다. 이러한 코돈 사용은 선택된 세포 유형에 의존적일 것이다. 이. 콜라이 및 다른 세균뿐만 아니라 포유동물 세포, 식물 세포, 효모 세포 및 곤충 세포에 대해 특수화된 코돈 사용 패턴이 개발되어 왔다. 예를 들면, 문헌[Mayfield et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003 100(2):438-42; Sinclair et al. Protein Expr. Purif. 2002 (1):96-105; Connell N D. Curr. Opin. Biotechnol. 2001 12(5):446-9; Makrides et al. Microbiol. Rev. 1996 60(3):512-38; and Sharp et al. Yeast. 1991 7(7):657-78]을 참조한다.
- [0103] 본원에 설명된 항체 및 항원 결합 단백질은 또한 (예를 들면, 문헌[Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., 1984, The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.]에 기술된 방법에 의한) 화학적 합성에 의해 생성될 수 있다. 단백질의 변형은 또한 화학적 합성에 의해 생성될 수 있다.
- [0104] 본원에 설명된 항체 및 항원 결합 단백질은 단백질 화학 분야에서 일반적으로 공지되어 있는 단백질에 대한 분리/정제 방법에 의해 정제될 수 있다. 비제한적인 예로는 추출, 재결정화, 염석(예를 들면, 황산암모늄 또는 황산나트륨을 사용한 염석), 원심분리, 투석, 초미세여과, 흡착 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 정상상(normal phase) 크로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 겔 여과, 겔 투과 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 전기천공, 역류 분배(countercurrent distribution) 또는 이들의 임의의 조합이 포함된다. 정제 후, 폴리펩타이드는 상이한 완충제로 교환될 수 있고/있거나, 여과 및 투석을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 당업계에 공지되어 있는 다양한 방법 중 임의의 방법에 의해 농축될 수 있다.
- [0105] 본원에 설명된 정제된 항체 및 항원 결합 단백질은 적어도 65% 순수, 적어도 75% 순수, 적어도 85% 순수, 적어도 95% 순수 또는 적어도 98% 순수하다. 순도의 정확한 수치 값과 상관없이, 폴리펩타이드는 약제품으로서 사용하기에 충분히 순수하다. 본원에 설명된 임의의 이량체 항원 수용체는 트랜스제닉 숙주 세포에 의해 발현될 수 있고, 이어서 임의의 당업계-공지된 방법을 사용하여 약 65 내지 98% 순도 또는 고 수준의 순도로 정제될 수 있다.
- [0106] 특정의 실시형태들에서, 본원의 항체 및 항원 결합 단백질은 번역-후 변형을 추가로 포함할 수 있다. 예시적인 번역-후 단백질 변형은 인산화, 아세틸화, 메틸화, ADP-리보실화, 유비퀴틴화, 글리코실화, 카보닐화, 수모화, 바이오티닐화 또는 폴리펩타이드 측쇄 또는 소수성 그룹의 첨가를 포함한다. 그 결과, 변형된 폴리펩타이드는 비-아미노산 요소, 예컨대 지질, 다당류 또는 단당류 및 포스페이트를 함유할 수 있다. 일 실시형태에서, 글리코실화는 하나 이상의 시알산 모이어티를 폴리펩타이드에 접합시키는 시알화(sialylation)일 수 있다. 시알산 모이어티는 용해도 및 혈청 반감기를 개선시키는 한편, 또한 단백질의 가능한 면역원성을 감소시킨다. 문헌[Raju et al. Biochemistry. 2001 31; 40(30):8868-76]을 참조한다.
- [0107] 일 실시형태에서, 본원에서 설명되는 항체 및 항원 결합 단백질은 항체 및 항원 결합 단백질을 비단백질성 중합체에 연결시키는 것을 포함하여 가용성 폴리펩타이드가 되도록 변형될 수 있다. 일 실시형태에서, 비단백질성 중합체는 미국 특허 제4,640,835호; 제4,496,689호; 제4,301,144호; 제4,670,417호; 제4,791,192호 또는 제4,179,337호에 제시된 바와 같은 방식으로 폴리에틸렌 글리콜("PEG"), 폴리프로필렌 글리콜 또는 폴리옥시알킬렌을 포함한다.
- [0108] 본 개시내용은 약제학적으로 허용되는 부형제와의 혼합물로서 본원에서 설명되는 임의의 이량체 항원 수용체를 포함하는 치료학적 조성물을 제공한다. 부형제는 담체, 안정화제 및 부형제를 포함한다. 약제학적으로 허용되는 부형제의 예로는 예를 들어, 불활성 희석제 또는 충전제(예를 들어, 슈크로스 및 소르비톨), 윤활제, 활택제 및 접착방지제(예를 들면, 마그네슘 스테아레이트, 아연 스테아레이트, 스테아르산, 실리카, 수소화된 식물성 오일 또는 탈크)가 포함된다. 추가 예로는 완충제, 안정화제, 보존제, 비이온성 세제, 항산화제 및 등장화제가 포함된다.
- [0109] 치료학적 조성물 및 이들의 제조 방법은 당업계에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 문헌["Remington: The Science and Practice of Pharmacy" (20th ed., ed. A. R. Gennaro A R., 2000, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.)]에서 확인된다. 치료학적 조성물은 비경구 투여용으로 제형화될 수 있으며, 예를 들어 부형제, 멸균수, 염수, 폴리알킬렌 글리콜, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 식물 기원 오일, 또는 수소화된 나프탈렌을 함유할 수 있다. 생체적합성, 생분해성 락타이드 중합체, 락타이드/글리콜라이드 공중합체 또는 폴리

옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체가 본원에서 설명되는 항체(또는 이의 항원 결합 단백질)의 방출을 제어하기 위해 사용될 수 있다. 나노입자 제형(예를 들어, 생분해성 나노입자, 고체 지지 나노입자, 리포솜)이 항체(또는 이의 항원 결합 단백질)의 생체분포(biodistribution)를 제어하기 위해 사용될 수 있다. 다른 잠재적으로 유용한 비경구 전달 시스템은 에틸렌-비닐 아세테이트 공중합체 입자, 삼투 펌프(osmotic pump), 이식가능한 주입 시스템 및 리포솜을 포함한다. 제형 중의 항체(또는 이의 항원 결합 단백질)의 농도는 투여될 약물의 용량 및 투여 경로를 포함하는 다수의 요인에 따라 달라진다.

[0110] 본원에 설명된 임의의 이량체 항원 수용체는 임의로 약제 산업에서 통상적으로 사용되는 약제학적으로 허용되는 염, 예컨대 비-독성 산 부가염 또는 금속 착물로서 투여될 수 있다. 산 부가염의 예로는 유기산, 예컨대 아세트산, 락트산, 파모산, 말레산, 시트르산, 말산, 아스코르브산, 석신산, 벤조산, 팔미트산, 수베르산, 살리실산, 타르타르산, 메탄설폰산, 툴루엔설폰산 또는 트리플루오로아세트산 등; 중합체 산, 예컨대 탄닌산, 카복시메틸 셀룰로스 등; 및 무기산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 또는 인산 등이 포함된다. 금속 착물은 아연 및 철 등을 포함한다. 일례로, 항체(또는 이의 항원 결합 부분)는 열 안정성을 증가시키기 위해 나트륨 아세테이트의 존재 하에 제형화된다.

[0111] 본원에서 설명되는 임의의 이량체 항원 수용체는 경구용으로 제형화될 수 있고, 비-독성 약제학적으로 허용되는 부형제와의 혼합물로 활성 성분(들)을 함유하는 정제를 포함한다. 경구용 제형은 또한 저작성 정제로서 또는 활성 성분이 불활성 고체 희석제와 혼합된 경질 젤라틴 캡슐 또는 활성 성분이 물 또는 오일 매질과 혼합된 연질 젤라틴 캡슐로서 제공될 수 있다.

[0112] 본 개시내용은 막관통 영역 및 세포내 신호전달 영역에 결합된 Fab 단편을 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR)를 제공한다. 일 실시형태에서, DAR 작제물은 Fab 단편과 막관통 영역 사이에 선택적인 힌지 영역을 포함한다. 본 개시내용의 DAR 구조는 Fab 형식 항체를 갖는 DAR 구조를 동일한 항체의 scFv 형식을 갖는 CAR 구조와 비교하는 예상치 못한 놀라운 결과를 제공한다. 게다가, 힌지 영역, 막관통 영역 및 2개의 세포내 신호전달 영역이 동일하기 때문에 DAR 형식과 CAR 형식을 직접 비교한다. 그러나, DAR 형식의 활성은 상응하는 CAR 형식보다 우수하였다.

[0113] 본 개시내용은 하나의 폴리펩타이드 쇄상에 중쇄 결합 영역을 포함하고 별개의 폴리펩타이드 쇄상에 경쇄 결합 영역을 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공한다. 이량체 항원 수용체를 구성하는 2개의 폴리펩타이드 쇄는 이량체화하여 단백질 복합체를 형성할 수 있다. 이량체 항원 수용체는 표적 항원에 특이적으로 결합하기 때문에 항체-유사 특성을 가지고 있다. 이량체 항원 수용체는 지향성 세포 요법을 위해 사용될 수 있다.

[0114] 본 개시내용은 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 갖는 DAR(이량체 항원 수용체) 작제물을 위한 구조를 제공하며, 여기서 상기 제1 폴리펩타이드 쇄는 항체의 중쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드 쇄는 항체의 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 제1 폴리펩타이드 쇄와 상기 제2 폴리펩타이드 쇄 둘 다가 동일한 세포에 의해 발현될 때, 상기 제1 폴리펩타이드 쇄는 형질도입된 세포의 외부 영역에서 하나 또는 복수의 디설파이드 결합에 의해 상기 제2 폴리펩타이드 쇄에 연결된다. 보다 구체적으로, DAR 작제물은, 서열 내에, 가변 도메인 영역 및 CH1 영역(카파(K) 또는 람다(L))과 상응하는 CL/CK 영역을 갖는 항체 중쇄(또는 경쇄), 힌지 영역, 막관통 영역 및 1개 또는 2개의 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 항체 경쇄(또는 중쇄) 가변 도메인 영역(카파(K) 또는 람다(L))과 상응하는 CL/CK 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하고, 여기서 각각의 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄의 CH 영역들은 힌지 서열에서 1개 또는 2개의 디설파이드 결합으로 연결된다.

[0115] 본 개시내용은 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 갖는 DAR(이량체 항원 수용체) 작제물을 위한 구조를 제공하며, 여기서 상기 제1 폴리펩타이드 쇄는 항체의 중쇄 가변 영역을 포함하고 상기 제2 폴리펩타이드 쇄는 항체의 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 제1 폴리펩타이드 쇄와 상기 제2 폴리펩타이드 쇄 둘 다가 동일한 세포에 의해 발현될 때, 상기 제1 폴리펩타이드 쇄는 형질도입된 세포의 외부 영역에서 하나 또는 복수의 디설파이드 결합에 의해 상기 제2 폴리펩타이드 쇄에 연결된다. 보다 구체적으로, DAR 작제물은, 서열 내에, 가변 도메인 영역 및 CH1 영역(카파(K) 또는 람다(L))과 상응하는 CL/CK 영역을 갖는 항체 중쇄, 힌지 영역, 막관통 영역 및 1개 또는 2개의 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 항체 경쇄 가변 도메인 영역(카파(K) 또는 람다(L))과 상응하는 CL/CK 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하고, 여기서 각각의 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄의 CH 영역들은 힌지 서열에서 1개 또는 2개의 디설파이드 결합으로 연결된다.

[0116] 일 실시형태에서, DAR 작제물은 별개의 폴리펩타이드 쇄상에 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역을 포

함하고, 여기서 상기 중쇄 가변 영역 및 상기 경쇄 가변 영역은 항원 결합 도메인을 형성한다.

- [0117] 일 실시형태에서, 힌지 영역은 약 10 내지 약 100개 아미노산 길이이다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 CD8 힌지 영역 또는 이의 단편, CD8 α 힌지 영역 또는 이의 단편, 항체의 불변 도메인 CH1 및 CH2를 결합시키는 항체 (IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD)의 힌지 영역으로 이루어진 그룹으로부터 독립적으로 선택된다. 힌지 영역은 항체로부터 유래될 수 있고 항체의 하나 이상의 불변 영역을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있다.
- [0118] 일 실시형태에서, 막관통 도메인은 CD8 α , CD8 β , 4-1BB/CD137, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16, OX40/CD134, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , TCR β , TCR ζ , CD32, CD64, CD64, CD45, CD5, CD9, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD137, CD154, LFA-1 T 세포 보조수용체, CD2 T 세포 보조수용체/부착 분자, CD40, CD40L/CD154, VEGFR2, FAS 및 FGFR2B로 이루어진 그룹으로부터 선택된 막 단백질 서열 영역으로부터 유래될 수 있다.
- [0119] 일 실시형태에서, 신호전달 영역은 CD3-제타 쇄, 4-1BB, CD28, CD27, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, 림프구 기능-연관된 항원-1(LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, GITR (TNFRSF18), DR3 (TNFRSF25), TNFR2, CD226 및 이들의 조합으로부터의 신호전달 영역으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0120] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체의 일반적 디자인은 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하고, 여기서 상기 제1 폴리펩타이드 쇄는 하나 또는 복수의 세포내 신호전달 서열 영역(들)에 연결된 막관통 영역에 연결된 힌지 영역에 결합된 이량체화 영역에 연결된 항원 결합 영역을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드 쇄는 항원 결합 도메인 및 이량체화 도메인을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄 중 하나 또는 둘 다의 항원 결합 도메인은 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역, 사이토킨 수용체의 세포 외 영역, 단일 도메인 항체 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄 중 하나 또는 둘 다의 이량체화 도메인은 카파 경쇄 불변 영역, 람다 경쇄 불변 영역, 류신 지퍼, myc-max 성분 및 이들의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 도 1 내지 도 4에서, "S-S"는 디설파이드 결합, 류신 지퍼 또는 myc-max 성분을 포함하는, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄의 이량체화를 초래하는 임의의 화학적 결합 또는 회합을 나타낸다.
- [0121] 본 개시내용은 제1 폴리펩타이드 쇄가 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하고 제2 폴리펩타이드 쇄가 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공한다(예를 들어, 도 1 및 도 2). 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물은: (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역(TM) 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함한다.
- [0122] 본 개시내용은 제1 폴리펩타이드 쇄가 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하고 제2 폴리펩타이드 쇄가 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공한다(예를 들어, 도 3 및 도 4). 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL), (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL), (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역(TM) 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함한다.
- [0123] 일 실시형태에서, 도 1 내지 도 4에 도시된 이량체 항원 수용체의 경우에, 항체 중쇄 불변 영역(CH) 및 항체 경쇄 불변 영역(CL)은 이량체화되어 이량체화 도메인을 형성할 수 있다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역 및 항체 경쇄 불변 영역은 1개 또는 2개의 디설파이드 결합을 통해 이량체화된다.
- [0124] 일 실시형태에서, 도 1 내지 도 4에 도시된 이량체 항원 수용체의 경우에, 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)은 서로 회합하여 항원 결합 도메인을 형성한다. 예를 들어, 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역은, 항체 중쇄 불변 영역 및 항체 경쇄 불변 영역이 이량체화할 때 서로 회합한다.
- [0125] 일 실시형태에서, 도 1 내지 도 4에 도시된 이량체 항원 수용체의 경우에, 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역으로부터 형성된 항원 결합 도메인은 표적 항원에 결합한다.
- [0126] 일 실시형태에서, 도 1 내지 도 4에 도시된 이량체 항원 수용체의 경우에, 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄

가변 영역은 완전 사람 항체 영역이다.

- [0127] 일 실시형태에서, 도 1 내지 도 4에 도시된 이량체 항원 수용체의 경우에, 힌지 영역은 약 10 내지 약 100개 아미노산 길이이다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 항체(예를 들어, IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD)로부터의 힌지 영역 또는 이의 단편을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 CD8(예를 들어, CD8 α) 또는 CD28 힌지 영역 또는 이의 단편을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 CPPC 또는 SPPC 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 CD8 힌지 서열과 CD28 힌지 서열 둘 다(예를 들어, 긴 힌지 영역), CD8 서열만(짧은 힌지) 또는 CD28 힌지 서열만(예를 들어, 짧은 힌지 영역)을 포함한다.
- [0128] 일 실시형태에서, 도 1 내지 도 4에 도시된 이량체 항원 수용체의 경우에, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄의 막관통 영역은 독립적으로 CD8 α, CD8 β, 4-1BB/CD137, CD28, CD34, CD4, Fc ε RI γ, CD16, OX40/CD134, CD3 ζ, CD3 ε, CD3 γ, CD3 δ, TCR α, TCR β, TCR ζ, CD32, CD64, CD64, CD45, CD5, CD9, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD137, CD154, LFA-1 T 세포 보조수용체, CD2 T 세포 보조수용체/부착 분자, CD40, CD40L/CD154, VEGFR2, FAS 및 FGFR2B로부터 유래될 수 있다.
- [0129] 일 실시형태에서, 도 1 내지 도 4에 도시된 이량체 항원 수용체의 경우에, 제1 폴리펩타이드의 세포내 신호전달 영역은 4-1BB, CD3제타, CD28, CD27, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, 림프구 기능-연관된 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, GITR (TNFRSF18), DR3 (TNFRSF25), TNFR2, CD226 및 이들의 조합으로부터의 2개 내지 5개의 신호전달 서열의 임의의 순서 및 임의의 조합으로 세포내 신호전달 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역은 CD28, 4-1BB 및/또는 CD3-제타의 2개 이상 중 임의의 하나 또는 임의의 조합으로부터의 세포내 신호전달 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열과 CD3-제타 세포내 신호전달 서열 또는 4-1BB 신호전달 서열과 CD3-제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역의 CD3-제타 부분은 ITAM(면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프) 모티프 1, 2 및 3(예를 들어, 긴 CD3-제타)을 포함한다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역의 CD3-제타 부분은 오직 ITAM 1, ITAM 2 또는 ITAM 3(예를 들어, 짧은 CD3-제타)과 같은 ITAM 모티프 중 오직 하나만을 포함한다.
- [0130] 본 개시내용은 서로 회합하여 CD38 단백질 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성하는 제1 폴리펩타이드 쇄와 제2 폴리펩타이드 쇄를 갖는 이량체 항원 수용체(DAR) 작체물질을 제공한다. 일 실시형태에서, CD38 단백질은 사람, 시노몰구스 및/또는 마우스로부터의 것이다. 일 실시형태에서, CD38 단백질은 야생형 또는 돌연변이체 CD38 단백질을 포함한다.
- [0131] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체의 제1 폴리펩타이드 쇄는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지, 또는 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 힌지, 또는 서열번호 19의 CD28 및 CD8 힌지 서열(예를 들어, 긴 힌지)을 포함하는 힌지 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 막관통 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역이다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열, 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3 제타 (긴) 신호전달 서열 및/또는 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 신호전달 서열 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄는 서열번호 13의 아미노산 서열(예를 들어, 도 35b에 밑줄로 표시된 리더 서열이 있거나 없는)을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄는 4-1BB 신호전달 서열과 CD3제타 신호전달 서열 사이에 서열번호 13의 아미노산 서열 및 CD28 신호전달 서열(서열번호 8)을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄는 서열번호 16의 아미노산 서열(예를 들어, 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열이 있거나 없는)을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄는 4-1BB 신호전달 서열과 CD3 제타 신호전달 서열 사이에 서열번호 16의 아미노산 서열 및 CD28 신호전달 서열(서열번호 8)을 포함한다.
- [0132] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체의 제2 폴리펩타이드 쇄는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체 경쇄 불변 영역은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 제2 폴리펩타이드 쇄의 전체길이는 서열번호 14의 아미노산 서열(예를 들어, 도 35b에 밑줄로 표시된 리더 서열이 있거나 없는)을 포함한다. 일 실시형태에서, 제2 폴리펩타이드 쇄의 전체길이는 서열번호 17의 아미노산 서열(예를 들어, 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열이 있거나 없는)을 포함한다.
- [0133] 본 개시내용은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역,

(iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공하고, 여기서 상기 항체 중쇄 불변 영역 및 상기 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역은 CD38 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성한다(예를 들어, 도 1).

[0134] 본 개시내용은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공하고, 여기서 상기 항체 중쇄 불변 영역 및 상기 항체 경쇄 불변 영역은 이량체화 도메인을 형성하고, 상기 항체 중쇄 가변 영역 및 상기 항체 경쇄 가변 영역은 CD38 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성한다(예를 들어, 도 1).

[0135] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 버전 1(예를 들어, V1) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공하고(예를 들어, 도 1), 여기서 (a) 제1 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 포함하는 긴 힌지 영역(예를 들어, 서열번호 19), (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) CD28 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 8) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 9)를 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; (b) 제2 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0136] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 버전 2(예를 들어, V2) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공하고(예를 들어, 도 1 및 도 2), 여기서 (a) 제1 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)을 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) (1) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (2) CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (3) 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열, 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; (b) 제2 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함한다.

[0137] 일 실시형태에서, 버전 2a(V2a) DAR 작제물은 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함한다.

[0138] 일 실시형태에서, 버전 2b(V2b) DAR 작제물은 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함한다.

[0139] 일 실시형태에서, 버전 2c(V2c) DAR 작제물은 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내

신호전달 영역을 포함한다.

- [0140] 일 실시형태에서, DAR V2a 및 V2b는 2세대 DAR 작제물인 반면, DAR V2c는 3세대 DAR 작제물이다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.
- [0141] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 포함하는 버전 3(예를 들어, V3) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공하고(예를 들어, 도 1), 여기서 **(a)** 제1 폴리펩타이드 쇠는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)를 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; **(b)** 제2 폴리펩타이드 쇠는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함한다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고, 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.
- [0142] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 포함하는 버전 4(예를 들어, V4) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 제공하고, 여기서 **(a)** 제1 폴리펩타이드 쇠는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 4개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (iv) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; **(b)** 제2 폴리펩타이드 쇠는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함한다. DAR V4 작제물은 힌지 서열이 결여되어 있다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고, 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.
- [0143] 본 개시내용은 전구체 폴리펩타이드를 제공한다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 회합/조립되어 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 형성하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠가 되도록 프로세싱될 수 있다.
- [0144] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 중쇄 리더 서열 (2) 항체 중쇄 가변 영역, (3) 항체 중쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 서열, (8) 경쇄 리더 서열, (9) 항체 경쇄 가변 영역 및 (10) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 제공한다(도 5 및 도 6). 비제한적 예에서, 세포내 신호전달 영역은 4-1BB, CD3제타 및/또는 CD28 중 적어도 2개의 임의의 조합의 세포내 신호전달 서열을 포함한다(도 5 및 도 6). 당업자는 다른 세포내 신호전달 서열의 조합도 가능하다는 것을 이해할 것이다. T2A 절단 서열은 2개의 별개의 폴리펩타이드를 생성하는 단백질 번역의 리보솜 스키핑 및 재개를 촉진하는 아미노산 서열이다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드의 집단은 T2A 절단 서열에서 절단되거나 절단되지 않은 폴리펩타이드의 혼합물 및/또는 중쇄 및/또는 경쇄 리더 서열에서 절단되거나 절단되지 않은 폴리펩타이드의 혼합물을 포함한다.
- [0145] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 경쇄 리더 서열, (2) 항체 경쇄 가변 영역, (3) 항체 경쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 서열, (8) 중쇄 리더 서열, (9) 항체 중쇄 가변 영역 및 (10) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 제공한다(도 7 및 도 8). 비제한적 예에서, 세포내 신호전달 영역은 4-1BB, CD3제타 및/또는 CD28 중 적어도 2개의 임의의 조합의 세포내 신호전달 서열을 포함한다(도 7 및 도 8). 당업자는 다른 세포내 신호전달 서열의 조합도 가능하다는 것을 이해할 것이다. T2A 절단 서열은 2개의 별개의 폴리펩타이드를 생성하는 단백질 번역의 리보솜 스키핑 및 재개를 촉진하는 아미노산 서열이다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드의 집단은 T2A 절단 서열에서 절단되거나 절단되지 않은 폴리펩타이드의 혼합물 및/또는 중쇄 및/또는 경쇄 리더 서열에서 절단되거나 절단되지 않은 폴리펩타이드의 혼합물을 포함한다.
- [0146] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 중쇄 및 경쇄 리더 서열은 폴리펩타

이드쇄(예를 들어, 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄)가 세포의 분비 경로를 표적화하도록 하고 폴리펩타이드가 세포막의 지질 이중층으로 통합 및 고정될 수 있게 하는 펩타이드 신호 서열을 포함한다. 중쇄 및 경쇄 리더 서열은 숙주 세포의 세포질로부터 소포체로의 전구체 폴리펩타이드 수송을 지시할 수 있다. 중쇄 및 경쇄 리더 서열은 CD8 α , CD28 또는 CD16 리더 서열을 포함하는 신호 서열을 포함한다.

- [0147] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 전구체 폴리펩타이드의 N-말단은 제1 펩타이드 신호 서열(예를 들어, 중쇄 또는 경쇄 리더 서열)을 포함한다.
- [0148] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 전구체 폴리펩타이드는 절단 서열 뒤에 위치한 제2 펩타이드 신호 서열(예를 들어, 중쇄 또는 경쇄 리더 서열)을 포함할 수 있다.
- [0149] 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 절단 서열에서 절단됨으로써 각각 N-말단에 펩타이드 신호 서열을 갖는 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄를 생성할 수 있다.
- [0150] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 전구체 폴리펩타이드의 프로세싱은 전구체의 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄로의 절단, 전구체 분비 및/또는 세포막 내의 전구체 고정을 포함한다.
- [0151] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 전구체 폴리펩타이드쇄가 절단되어 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄를 생성한 후, (폴리펩타이드쇄 중 하나의) 항체 중쇄 불변 영역(CH) 및 (다른 폴리펩타이드쇄의) 항체 경쇄 불변 영역(CL)은 이량체화되어 이량체화 도메인을 형성할 수 있다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 불변 영역과 항체 경쇄 불변 영역은 1개 또는 2개의 디설파이드 결합을 통해 이량체화된다.
- [0152] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 전구체 폴리펩타이드쇄가 절단되어 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄를 생성한 후, (폴리펩타이드쇄 중 하나의) 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 (다른 폴리펩타이드쇄의) 항체 경쇄 가변 영역(VL)은 서로 회합하여 항원 결합 도메인을 형성한다. 예를 들어, 항체 중쇄 가변 영역과 항체 경쇄 가변 영역은, 항체 중쇄 불변 영역과 항체 경쇄 불변 영역이 이량체화될 때, 서로 회합한다.
- [0153] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역으로부터 형성된 항원 결합 도메인은 표적 항원에 결합한다.
- [0154] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역은 완전 사람 항체 영역이다.
- [0155] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 힌지 영역은 약 10 내지 약 100개 아미노산 길이이다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 항체(예를 들어, IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD)로부터의 힌지 영역 또는 이의 단편을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 CD8(예를 들어, CD8 α) 또는 CD28 힌지 영역 또는 이의 단편을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 CPPC 또는 SPPC 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 CD8 힌지 서열과 CD28 힌지 서열 둘 다(예를 들어, 긴 힌지 영역), CD8 서열만(짧은 힌지) 또는 CD28 힌지 서열만(예를 들어, 짧은 힌지 영역)을 포함한다.
- [0156] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 전구체 폴리펩타이드쇄의 막관통 영역은 CD8 α , CD8 β , 4-1BB/CD137, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16, OX40/CD134, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α , TCR β , TCR ζ , CD32, CD64, CD64, CD45, CD5, CD9, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD137, CD154, LFA-1 T 세포 보조수용체, CD2 T 세포 보조수용체/부착 분자, CD40, CD40L/CD154, VEGFR2, FAS 및 FGFR2B로부터 유래될 수 있다.
- [0157] 일 실시형태에서, 도 5 내지 도 8에 도시된 전구체 폴리펩타이드의 경우에, 제1 폴리펩타이드의 세포내 신호전달 영역은 4-1BB, CD3제타, CD28, CD27, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, 림프구 기능-연관된 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, GITR(TNFRSF18), DR3(TNFRSF25), TNFR2 및/또는 CD226로부터의 2개 내지 5개의 신호전달 서열의 임의의 순서 및 임의의 조합으로 세포내 신호전달 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역은 CD28, 4-1BB 및/또는 CD3-제타 중 2개 이상 중 임의의 하나 또는 임의의 조합으로부터의 세포내 신호전달 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역은 CD28 신호전달 서열과 CD3-제타 세포내 신호전달 서열 또는 4-1BB 신호전달 서열과 CD3-제타 세포내 신호전달 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역의 CD3-제타 부분은 ITAM(면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프) 모티프 1, 2 및 3(예를

들어, 긴 CD3-제타)을 포함한다. 일 실시형태에서, 세포내 신호전달 영역의 CD3-제타 부분은 오직 ITAM 1, ITAM 2 또는 ITAM 3과 같은 ITAM 모티프 중 오직 하나만을 포함한다(예를 들어, 짧은 CD3-제타).

[0158] 본 개시내용은 10개의 영역: (1) 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 리더 서열; (2) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역; (3) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역; (4) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역 및 임의로, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 힌지; (5) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역; (6) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열, 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (긴) 신호전달 서열 및/또는 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 3개 이상의 신호전달 서열의 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함하는 세포내 신호전달 영역; (7) 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 T2A 절단 서열; (8) 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 리더 서열; (9) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역; 및 (10) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 제공한다. 일 실시형태에서, 전체길이 전구체 폴리펩타이드는 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 전체길이 전구체 폴리펩타이드는 4-1BB 신호전달 서열과 CD3제타 신호전달 서열 사이에 서열번호 15의 아미노산 서열 및 CD28 신호전달 서열(서열번호 8)을 포함한다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는, T2A 절단 가능한 서열에서 절단되어 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 방출하고 전구체를 분비하고/하거나 전구체를 세포막 내에 고정 시킴으로써 프로세싱될 수 있다. 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠는 항체 중쇄 불변 영역과 항체 경쇄 불변 영역 사이의 적어도 하나의 디설파이드 결합을 통해 이량체화될 수 있고, 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역은 CD38 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성할 수 있다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 선택적이다.

[0159] 본 개시내용은 10개의 영역: (1) 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 리더 서열; (2) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역; (3) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역; (4) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역; (5) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역; (6) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열 및 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열 및 임의로, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역; (7) 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 T2A 절단 서열; (8) 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 리더 서열; (9) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역; 및 (10) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 제공한다. 일 실시형태에서, 전체길이 전구체 폴리펩타이드는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는, T2A 절단 가능한 서열에서 절단되어 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 방출하고 전구체를 분비하고/하거나 전구체를 세포막 내에 고정시킴으로써 프로세싱될 수 있다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠의 방출 후, 제1 폴리펩타이드 쇠는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고 제2 폴리펩타이드 쇠는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함한다. 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠는 항체 중쇄 불변 영역과 항체 경쇄 불변 영역 사이의 적어도 하나의 디설파이드 결합을 통해 이량체화될 수 있고, 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역은 CD38 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 형성할 수 있다.

[0160] 본 개시내용은 본원에서 설명되는 제1 폴리펩타이드 쇠, 제2 폴리펩타이드 쇠, 제1 폴리펩타이드 쇠와 제2 폴리펩타이드 쇠, 이량체 항원 수용체 또는 전구체 폴리펩타이드 중 임의의 것을 암호화하는 핵산을 제공한다.

[0161] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산을 제공한다.

[0162] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산을 제공한다.

[0163] 일 실시형태에서, 핵산은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩

타이드 쇠를 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 암호화한다.

- [0164] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0165] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0166] 일 실시형태에서, 핵산은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 3 및 도 4)를 암호화한다.
- [0167] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 영역, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0168] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 3개의 영역: (i) 경쇄 리더 영역, (ii) 항체 경쇄 가변 영역 및 (iii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0169] 일 실시형태에서, 핵산은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 서열, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화한다.
- [0170] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 영역, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0171] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 3개의 영역: (i) 중쇄 리더 영역, (ii) 항체 중쇄 가변 영역 및 (iii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0172] 일 실시형태에서, 핵산은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 서열, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화한다.
- [0173] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 중쇄 리더 영역, (2) 항체 중쇄 가변 영역, (3) 항체 중쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 경쇄 리더 영역, (9) 항체 경쇄 가변 영역 및 (10) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드(예를 들어, 도 5 및 도 6)를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0174] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 경쇄 리더 영역, (2) 항체 경쇄 가변 영역, (3) 항체 경쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 중쇄 리더 영역, (9) 항체 중쇄 가변 영역 및 (10) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드(예를 들어, 도 7 및 도 8)를 암호화하는 핵산을 제공한다.
- [0175] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역 및 임의로, 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 CD8 힌지, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 신호전달 서열, 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 신호전달 서열, 서열번호

9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (긴) 신호전달 서열 및/또는 ITAM 3 모티프를 갖고 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 (짧은) 신호전달 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 2개 이상의 신호전달 서열 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산을 제공한다. 일 실시형태에서, 핵산은 서열번호 13 또는 서열번호 16의 아미노산 서열(예를 들어, 도 35b 또는 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열이 있거나 없는)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. 일 실시형태에서, 핵산은 4-1BB 신호전달 서열과 CD3제타 신호전달 서열 사이에 서열번호 13의 아미노산 서열 및 CD28 신호전달 서열(서열번호 8)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. 일 실시형태에서, 핵산은 서열번호 16의 아미노산 서열(예를 들어, 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열이 있거나 없는)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. 일 실시형태에서, 핵산은 4-1BB 신호전달 서열과 CD3제타 신호전달 서열 사이에 서열번호 16의 아미노산 서열 및 CD28 신호전달 서열(서열번호 8)을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. 일 실시형태에서, 힌지 영역은 선택적이다.

[0176] 일 실시형태에서, 핵산은 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 가변 영역을 포함하는 이량체 항원 수용체의 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. 일 실시형태에서, 핵산은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 이량체 항원 수용체의 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. 일 실시형태에서, 핵산은 서열번호 14 또는 서열번호 17의 아미노산 서열(예를 들어, 도 35b 또는 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열이 있거나 없는)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄의 전체길이를 암호화한다.

[0177] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산을 제공한다.

[0178] 일 실시형태에서, 핵산은 제1 폴리펩타이드 쇄(서열번호 13 또는 서열번호 16), T2A 절단 서열(서열번호 12) 및 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호 14 또는 서열번호 17)를 암호화한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄(서열번호 13 또는 서열번호 16)는 각각 도 35b 및 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열을 포함하거나 이것이 결합되어 있다. 일 실시형태에서, 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호 14 또는 서열번호 17)는 각각 도 35b 또는 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열을 포함하거나 이것이 결합되어 있다.

[0179] 본 개시내용은 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 제공한다.

[0180] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1)를 포함하는 버전 1(예를 들어, V1) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산을 제공하고, 여기서 (a) 제1 핵산은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 포함하는 긴 힌지 영역(예를 들어, 서열번호 19), (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) CD28 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 8) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 9)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하고; (b) 제2 핵산은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0181] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 포함하는 버전 2(예를 들어, V2) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산을 제공하고, 여기서 (a) 제1 핵산은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)을 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) (1) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (2) CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하고; (b)

제2 핵산은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다.

- [0182] 일 실시형태에서, 핵산은 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2a(V2a) DAR 작제물을 암호화한다.
- [0183] 일 실시형태에서, 핵산은 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2b(V2b) DAR 작제물을 암호화한다.
- [0184] 일 실시형태에서, 핵산은 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2c (V2c) DAR 작제물을 암호화한다. 일 실시형태에서, DAR V2a 및 V2b는 2세대 DAR 작제물인 반면, DAR V2c는 3세대 DAR 작제물이다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고, 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.
- [0185] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1)를 포함하는 버전 3(예를 들어, V3) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산을 제공하고, 여기서 (a) 제1 핵산은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)를 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하고; (b) 제2 핵산은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.
- [0186] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 버전 4(예를 들어, V4) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산을 제공하고, 여기서 (a) 제1 핵산은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 4개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (iv) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하고; (b) 제2 핵산은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화한다. DAR V4 작제물은 힌지 서열이 결여되어 있다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.
- [0187] 본 개시내용은 본원에서 설명되는 제1 폴리펩타이드 쇄, 제2 폴리펩타이드 쇄, 제1 폴리펩타이드 쇄와 제2 폴리펩타이드 쇄, 이량체 항원 수용체 또는 전구체 폴리펩타이드 중 임의의 것을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0188] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0189] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0190] 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터는 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의

영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함한다.

- [0191] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0192] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0193] 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터는 **(a)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 **(b)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함한다.
- [0194] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 영역, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0195] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 3개의 영역: (i) 경쇄 리더 영역, (ii) 항체 경쇄 가변 영역 및 (iii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0196] 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터는 **(a)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 서열, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 **(b)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함한다.
- [0197] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 영역, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0198] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 3개의 영역: (i) 중쇄 리더 영역, (ii) 항체 중쇄 가변 영역 및 (iii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0199] 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터는 **(a)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 서열, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 **(b)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함한다.
- [0200] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 중쇄 리더 영역, (2) 항체 중쇄 가변 영역, (3) 항체 중쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 경쇄 리더 영역, (9) 항체 경쇄 가변 영역 및 (10) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0201] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 경쇄 리더 영역, (2) 항체 경쇄 가변 영역, (3) 항체 경쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 중쇄 리더 영역, (9) 항체 중쇄 가변 영역 및 (10) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.

- [0202] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0203] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0204] 일 실시형태에서, 벡터는 제1 폴리펩타이드 쇄(서열번호 13 또는 서열번호 16) 및 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호 14 또는 서열번호 17)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.
- [0205] 일 실시형태에서, 벡터는 제1 폴리펩타이드 쇄(서열번호 13 또는 서열번호 16), T2A 절단 서열(서열번호 12) 및 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호 14 또는 서열번호 17)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄(서열번호 13 또는 서열번호 16)는 도 35b 및 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열을 포함하거나 이것이 결합되어 있다. 일 실시형태에서, 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호 14 또는 서열번호 17)는 도 35b 및 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열을 포함하거나 이것이 결합되어 있다. 본 개시내용은 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0206] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1)를 포함하는 버전 1(예를 들어, V1) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공하고, 여기서 (a) 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 포함하는 긴 힌지 영역(예를 들어, 서열번호 19), (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) CD28 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 8) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 9)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결되고; (b) 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고, 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.
- [0207] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 포함하는 버전 2(예를 들어, V2) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공하고, 여기서 (a) 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)을 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) (1) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (2) CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (3) 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결되고; (b) 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다.
- [0208] 일 실시형태에서, 벡터는 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2a(V2a) DAR 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.
- [0209] 일 실시형태에서, 벡터는 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제

타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2b(V2b) DAR 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.

[0210] 일 실시형태에서, 벡터는 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2c(V2c) DAR 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 일 실시형태에서, DAR V2a 및 V2b는 2세대 DAR 작제물은 2세대인 한편, DAR V2c는 3세대 DAR 작제물이다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고, 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0211] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1)를 포함하는 버전 3(예를 들어, V3) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공하고, 여기서 (a) 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)를 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결되고; (b) 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고, 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0212] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 버전 4(예를 들어, V4) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공하고, 여기서 (a) 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 4개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (iv) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결되고; (b) 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다. DAR V4 작제물은 힌지 서열이 결여되어 있다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고, 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0213] 본 개시내용은 본원에서 설명되는 제1 폴리펩타이드 쇄, 제2 폴리펩타이드 쇄, 제1 폴리펩타이드 쇄와 제2 폴리펩타이드 쇄, 이량체 항원 수용체 또는 전구체 폴리펩타이드 중 임의의 것을 암호화하는 핵산 전이유전자에 작동 가능하게 연결된 하나 이상의 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.

[0214] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 하나 이상의 발현 벡터가 도입되고, 여기서 상기 벡터는 본원에서 설명되는 임의의 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산 전이유전자에 작동 가능하게 연결된다. 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 T 림프구(예를 들어, T 세포, 조절 T 세포, 감마-델타 T 세포 및 세포독성 T 세포), NK(자연 살해) 세포, 대식세포, 수지상세포, 비만세포, 호산구, B 림프구, 단핵구를 포함한다. 일 실시형태에서, NK 세포는 제대혈 유래의 NK 세포 또는 태반 유래의 NK 세포를 포함한다.

[0215] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 숙주 세포 내로의 전이유전자의 일시적 도입 또는 숙주 세포의 계놈 내로의 전이유전자의 안정한 삽입을 지시할 수 있는 하나 이상의 발현 벡터를 보유한다. 발현 벡터(들)은 숙주 세포에서의 전이유전자의 전사 및/또는 번역을 지시할 수 있다. 발현 벡터는 레트로바이러스, 렌티바이러스 또는 아데노바이러스로부터 유래된 핵산 백본 서열을 포함할 수 있다. 발현 벡터는 유도성 및/또는 항시성 프로모터 및 인핸서와 같은 하나 이상의 조절 서열을 포함할 수 있다. 발현 벡터는 리보솜 결합 부위 및/또는 폴리아데닐화 부위를 포함할 수 있다.

[0216] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터는 트랜스제닉 숙주 세포의 표면에 표시될 수 있는 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물 또는 세포 배양 배지로 분비될

수 있는 이량체 항원 수용체의 생산을 지시할 수 있다.

- [0217] 일 실시형태에서, 숙주 세포는 임의의 이량체 항원 수용체를 암호화하는 핵산 전이유전자에 작동 가능하게 연결된 하나 이상의 발현 벡터를 보유할 수 있고, 숙주 세포는 이량체 항원 수용체 작제물을 일시적으로 또는 안정하게 발현하기에 적절한 배양 배지에서 배양될 수 있다.
- [0218] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0219] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0220] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 발현 벡터 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제2 발현 벡터를 보유하고, 여기서 (a) 제1 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; (b) 상기 제2 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0221] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유한다.
- [0222] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 발현한다.
- [0223] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0224] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0225] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 발현 벡터 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제2 발현 벡터를 보유하고, 여기서 (a) 제1 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; (b) 제2 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0226] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유한다.
- [0227] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 발현한다.
- [0228] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 영역, (ii) 항체 중쇄 가

변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.

- [0229] 본 개시내용을 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 3개의 영역: (i) 경쇄 리더 영역, (ii) 항체 경쇄 가변 영역 및 (iii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0230] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 발현 벡터를 보유하고 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제2 발현 벡터를 보유하고, 여기서 (a) 상기 제1 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 서열, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; (b) 상기 제2 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0231] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 서열, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유한다.
- [0232] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 발현한다.
- [0233] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 영역, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0234] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 3개의 영역: (i) 중쇄 리더 영역, (ii) 항체 중쇄 가변 영역 및 (iii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0235] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 발현 벡터를 보유하고 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 제2 발현 벡터를 보유하고, 여기서 (a) 상기 제1 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 서열, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; (b) 상기 제2 폴리펩타이드 쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0236] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 서열, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는, 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유한다.
- [0237] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 발현한다.
- [0238] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 중쇄 리더 영역, (2) 항체 중쇄 가변 영역, (3) 항체 중쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 경쇄 리더 영역, (9) 항체 경쇄 가변 영역 및 (10) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.

- [0239] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 전구체 폴리펩타이드를 발현한다.
- [0240] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 경쇄 리더 영역, (2) 항체 경쇄 가변 영역, (3) 항체 경쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 중쇄 리더 영역, (9) 항체 중쇄 가변 영역 및 (10) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0241] 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 전구체 폴리펩타이드를 발현한다.
- [0242] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0243] 본 개시내용은 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공한다.
- [0244] 일 실시형태에서, 벡터는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호 6 및 서열번호 7)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.
- [0245] 일 실시형태에서, 벡터는 제1 폴리펩타이드 쇄(서열번호 6), T2A 절단 서열(서열번호 12) 및 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호 7)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.
- [0246] 본 개시내용은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하는 전구체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공한다.
- [0247] 일 실시형태에서, 숙주 세포는 제1 폴리펩타이드 쇄(서열번호 13 또는 서열번호 16) 및 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호)를 발현한다. 일 실시형태에서, 숙주 세포는 서열번호 14 또는 서열번호 17)의 전구체 폴리펩타이드를 발현한다.
- [0248] 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇄(서열번호 13 또는 서열번호 16)는 도 35b 또는 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열을 포함하거나 이것이 결여되어 있다. 일 실시형태에서, 제2 폴리펩타이드 쇄(서열번호 14 또는 서열번호 17)는 도 35b 또는 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열을 포함하거나 이것이 결여되어 있다.
- [0249] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1)를 포함하는 버전 1(예를 들어, V1) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공하고, 여기서 (a) 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 포함하는 긴 힌지 영역(예를 들어, 서열번호 19), (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) CD28 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 8) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 9)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결되고; (b) 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열 (예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.
- [0250] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 포함하는 버전 2(예를 들어, V2) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 제공하고, 여

기서 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열 (예를 들어, 서열번호 5)을 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) (1) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (2) CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (3) 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 벡터를 보유하고; (b) 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다.

[0251] 일 실시형태에서, 벡터는 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2a(V2a) DAR 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.

[0252] 일 실시형태에서, 벡터는 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2b(V2b) DAR 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다.

[0253] 일 실시형태에서, 벡터는 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)를 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 버전 2c (V2c) DAR 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 일 실시형태에서, DAR V2a 및 V2b는 2세대 DAR 작제물은 2세대인 한편, DAR V2c는 3세대 DAR 작제물이다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0254] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄(예를 들어, 도 1)를 포함하는 버전 3(예를 들어, V3) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공하고, 여기서 상기 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)를 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 벡터를 보유하고; (b) 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0255] 본 개시내용은 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 포함하는 버전 4(예를 들어, V4) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 제공하고, 여기서 상기 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 4개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (iv) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결된 1 벡터를 보유하고; (b) 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 상기 DAR V4 작제물은 힌지 서열이 결여되어 있다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38

중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

- [0256] 본 개시내용은 대상체에게 이량체 항원 수용체 작제물을 발현하도록 조작된 트랜스제닉 숙주 세포를 투여함으로써 입양 세포 요법을 실시하는 방법을 제공한다.
- [0257] 본 개시내용은 중앙 항원의 유해한 발현(예를 들어, 상승된 발현)과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법을 추가로 제공한다. 이러한 방법은, 예를 들어 본원에 설명된 제1 폴리펩타이드 쇄 또는 제2 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것 또는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것 또는 전구체 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 백터를 보유하는 숙주 세포를 대상체에게 투여함을 포함한다. 일 실시형태에서, 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 본원에서 설명되는 제1 폴리펩타이드 쇄 또는 제2 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것 또는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것 또는 전구체 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것을 발현한다.
- [0258] 일 실시형태에서, 대상체를 치료하는데 사용되는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 하나 이상의 발현 백터가 도입되며, 여기서 상기 백터는 본원에서 설명되는 임의의 이량체 항원 수용체(DAR)를 암호화하는 핵산 전이유전자에 작동 가능하게 연결된다. 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 T 림프구(예를 들어, T 세포, 조절 T 세포, 감마-델타 T 세포 및 세포독성 T 세포), NK(자연 살해) 세포, 대식세포, 수지상세포, 비만세포, 호산구, B 림프구, 단핵구를 포함한다. 일 실시형태에서, NK 세포는 제대혈 유래의 NK 세포 또는 태반 유래의 NK 세포를 포함한다.
- [0259] 일 실시형태에서, 대상체를 치료하는데 사용되는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 숙주 세포 내로의 전이유전자의 일시적 도입 또는 숙주 세포의 게놈 내로의 전이유전자의 안정한 삽입을 지시할 수 있는 하나 이상의 발현 백터를 보유한다. 발현 백터(들)은 숙주 세포에서의 전이유전자의 전사 및/또는 번역을 지시할 수 있다. 일 실시형태에서, 전이유전자는 본원에서 설명되는 제1 폴리펩타이드 쇄 또는 제2 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것 또는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것 또는 전구체 폴리펩타이드 쇄 중 임의의 것을 암호화하는 핵산을 포함한다. 발현 백터는 레트로바이러스, 렌티바이러스 또는 아데노바이러스로부터 유래된 핵산 백본 서열을 포함할 수 있다. 발현 백터는 유도성 및/또는 항시성 프로모터 및 인핸서와 같은 하나 이상의 조절 서열을 포함할 수 있다. 발현 백터는 리보솜 결합 부위 및/또는 폴리아데닐화 부위를 포함할 수 있다.
- [0260] 일 실시형태에서, 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 백터는 트랜스제닉 숙주 세포의 표면에 표시될 수 있는 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물 또는 세포 배양 배지로 분비될 수 있는 이량체 항원 수용체의 생산을 지시할 수 있다.
- [0261] 일 실시형태에서, 숙주 세포는 임의의 이량체 항원 수용체를 암호화하는 핵산 전이유전자에 작동 가능하게 연결된 하나 이상의 발현 백터를 보유할 수 있고, 숙주 세포는 이량체 항원 수용체 작제물을 일시적으로 또는 안정하게 발현하기에 적절한 배양 배지에서 배양될 수 있다.
- [0262] 일 실시형태에서, 대상체를 치료하는데 사용되는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 자가이고 치료를 받는 대상체로부터 유래된다. 일 실시형태에서, 전혈은 대상체로부터 획득될 수 있고, 원하는 세포(예를 들어, T 림프구, NK 세포 또는 대식세포)는 전혈로부터 회수될 수 있다.
- [0263] 일 실시형태에서, 대상체를 치료하는데 사용되는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 동종이계(allogenic)이고 상이한 대상체로부터 유래된다. 동종이계 세포는 자가 세포에 대해 사용된 동일한 방식으로 상이한 대상체로부터의 전혈로부터 획득될 수 있다. 일 실시형태에서, 동종이계 세포는 임신 후의 태반 또는 제대 조직으로부터 유래된다.
- [0264] 일 실시형태에서, 원하는 세포는 치료를 받을 대상체 또는 상이한 대상체로부터 획득되고, 제1 또는 제2 폴리펩타이드, 또는 전구체 폴리펩타이드 중 임의의 것의 발현을 지시하는 하나 이상의 발현 백터를 보유하도록 조작되고, 이를 통해 트랜스제닉 숙주 세포가 생성된다. 트랜스제닉 숙주 세포는 제1 또는 제2 폴리펩타이드 또는 전구체 폴리펩타이드를 발현할 수 있다. 숙주 세포는 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 발현할 수 있으며, 이들은 이량체화하여 대상체의 중앙 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다. 숙주 세포는 절단되어 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄를 형성할 수 있는 전구체 폴리펩타이드 쇄를 발현할 수 있고, 상기 제1 폴리펩타이드 쇄 및 제2 폴리펩타이드 쇄는 이량체화하여 대상체의 중앙 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다. 트랜스제닉 숙주 세포(예를 들어, 발현 백터(들)을 보유하거나 폴리펩타이드 쇄를 발현함)는 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 치료하기 위해 대상체에게 투여될 수 있다.

- [0265] 본 개시내용은 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하고, 여기서 상기 장애는 혈액 유방암, 난소암, 전립선암, 두경부암, 폐암, 방광암, 흑색종, 결장직장암, 췌장암, 폐암, 간암, 신장암, 식도암, 평활근종, 평활근육종, 신경교종 및 교모세포종을 포함하나 이에 한정되지 않는 암이다.
- [0266] 일 실시형태에서, 암은 비호지킨 림프종(NHL), 버킷 림프종(BL), B 만성 림프구성 백혈병(B-CLL), B 및 T 급성 림프구성 백혈병(ALL), T 세포 림프종(TCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 모발성 세포 백혈병(HCL), 호지킨 림프종(HL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 다발성 골수종(MM)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 혈액 암이다.
- [0267] 본 개시내용은 추가로 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0268] 본 개시내용은 추가로 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0269] 본 개시내용은 추가로 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 발현 벡터 및 제2 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 제1 발현 벡터는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고 제2 발현 벡터는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고, **(a)** 상기 제1 폴리펩타이드 쇠는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; **(b)** 상기 제2 폴리펩타이드 쇠는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(예를 들어, 도 1 및 도 2)을 포함하는, 방법을 제공한다.
- [0270] 본 개시내용은 추가로 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 **(a)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠; 및 **(b)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0271] 일 실시형태에서, 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 폴리펩타이드 쇠, 제2 폴리펩타이드 쇠, 또는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 발현하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠는 이량체화하여 대상체의 중앙 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다.
- [0272] 본 개시내용은 추가로 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 3 및 도 4)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0273] 본 개시내용은 추가로 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 3 및 도 4)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0274] 본 개시내용은 추가로 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서

서, 대상체에게 제1 발현 벡터 및 제2 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 제1 발현 벡터는 제1 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고 제2 발현 벡터는 제2 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고, **(a)** 상기 제1 폴리펩타이드쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; **(b)** 상기 제2 폴리펩타이드쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역(예를 들어, 도 3 및 도 4)을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0275] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 **(a)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역, (ii) 항체 경쇄 불변 영역, (iii) 선택적인 힌지 영역, (iv) 막관통 영역 및 (v) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드쇄; 및 **(b)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드쇄(예를 들어, 도 3 및 도 4)를 포함하는 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0276] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 폴리펩타이드쇄, 제2 폴리펩타이드쇄, 또는 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄(예를 들어, 도 3 및 도 4)를 발현하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄는 이량체화하여 대상체의 종양 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다.

[0277] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 영역, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드쇄(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0278] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 3개의 영역: (i) 경쇄 리더 영역, (ii) 항체 경쇄 가변 영역 및 (iii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드쇄(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0279] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 발현 벡터 및 제2 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 제1 발현 벡터는 제1 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고 제2 발현 벡터는 제2 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고, **(a)** 상기 제1 폴리펩타이드쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 서열, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; **(b)** 상기 제2 폴리펩타이드쇄는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(예를 들어, 도 1 및 도 2)을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0280] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 **(a)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 중쇄 리더 서열, (ii) 항체 중쇄 가변 영역, (iii) 항체 중쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드쇄; 및 **(b)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드쇄(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 포함하는 제1 폴리펩타이드쇄 및 제2 폴리펩타이드쇄를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0281] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서,

대상체에게 제1 폴리펩타이드 쇠, 제2 폴리펩타이드 쇠, 또는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 발현하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠는 이량체화하여 대상체의 종양 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다.

[0282] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 영역, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠(도 3 및 도 4)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0283] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 3개의 영역: (i) 중쇄 리더 영역, (ii) 항체 중쇄 가변 영역 및 (iii) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠(도 3 및 도 4)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0284] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 발현 벡터 및 제2 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 제1 발현 벡터는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고 제2 발현 벡터는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고, (a) 상기 제1 폴리펩타이드 쇠는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 서열, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하고; (b) 상기 제2 폴리펩타이드 쇠는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역(도 3 및 도 4)을 포함하는, 방법을 제공한다.

[0285] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 6개의 영역: (i) 경쇄 리더 서열, (ii) 항체 경쇄 가변 영역, (iii) 항체 경쇄 불변 영역, (iv) 선택적인 힌지 영역, (v) 막관통 영역 및 (vi) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠; 및 (b) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역 및 (ii) 항체 중쇄 불변 영역(도 3 및 도 4)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0286] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 폴리펩타이드 쇠, 제2 폴리펩타이드 쇠, 또는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 3 및 도 4)를 발현하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠는 이량체화하여 대상체의 종양 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다.

[0287] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 중쇄 리더 영역, (2) 항체 중쇄 가변 영역, (3) 항체 중쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내 신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 경쇄 리더 영역, (9) 항체 경쇄 가변 영역 및 (10) 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드(예를 들어, 도 5 및 도 6)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 절단되어 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 형성하고, 이들은 이량체화하여 대상체의 종양 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다.

[0288] 본 개시내용은 추가로 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 10개의 영역: (1) 경쇄 리더 영역, (2) 항체 경쇄 가변 영역, (3) 항체 경쇄 불변 영역, (4) 선택적인 힌지 영역, (5) 막관통 영역, (6) 2개 내지 5개의 세포내

신호전달 서열을 갖는 세포내 신호전달 영역, (7) T2A 절단 가능한 서열 영역, (8) 중쇄 리더 영역, (9) 항체 중쇄 가변 영역 및 (10) 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 전구체 폴리펩타이드(도 7 및 도 8)를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 절단되어 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 형성하고, 이들은 이량체화하여 대상체의 종양 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다.

[0289] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 가변 영역, (ii) 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 중쇄 불변 영역, (iii) 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 힌지 영역, (iv) 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막 관통 영역 및 (v) 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 4-1BB 세포내 신호전달 서열 및 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 CD3제타 세포내 신호전달 서열을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함한다.

[0290] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 가변 영역 및 (ii) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CD38 항체 경쇄 불변 영역을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함한다.

[0291] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 발현 벡터 및 제2 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 제1 발현 벡터는 서열번호 13 또는 서열번호 16의 아미노산 서열을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있고 상기 제2 발현 벡터는 서열번호 14 또는 서열번호 17의 아미노산 서열을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결되어 있다.

[0292] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 벡터는 서열번호 13의 아미노산 서열과 서열번호 14의 아미노산 서열 또는 서열번호 16의 아미노산 서열과 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함한다.

[0293] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 서열번호 15 또는 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 전구체 폴리펩타이드(예를 들어, CD38 전구체, 2세대)를 암호화하는 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함한다.

[0294] 일 실시형태에서, 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 제1 폴리펩타이드 쇠(서열번호 13 또는 서열번호 16), 제2 폴리펩타이드 쇠(서열번호 14 또는 서열번호 17), 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠(서열번호 13 및 서열번호 14, 또는 서열번호 16 및 서열번호 17) 또는 전구체 폴리펩타이드(서열번호 15 또는 서열번호 18)를 발현하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함한다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇠(서열번호 13 또는 서열번호 16)는 도 35b 또는 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열을 포함하거나 이것이 결합되어 있다. 일 실시형태에서, 제2 폴리펩타이드 쇠(서열번호 14 또는 서열번호 17)는 도 35b 또는 도 35c에 밑줄로 표시된 리더 서열을 포함하거나 이것이 결합되어 있다. 일 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠는 이량체화하여 대상체의 종양 항원에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다. 일 실시형태에서, 전구체 폴리펩타이드는 절단되어 제1 폴리펩타이드 쇠 및 제2 폴리펩타이드 쇠를 형성하고, 이들은 이량체화하여 대상체의 종양 항원(예를 들어, CD38)에 특이적으로 결합하는 이량체 항원 수용체를 형성한다.

[0295] 본 개시내용은 종양 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하고, 여기서 상기 장애는 혈액 유방암, 난소암, 전립선암, 두경부암, 폐암, 방광암, 흑색종, 결장직장암, 췌장암, 폐암, 간암, 신장암, 식도암, 평활근종, 평활근육종, 신경교종 및 교모세포종을 포함하나 이에 한정되지 않는 암이다.

[0296] 일 실시형태에서, 암은 비호지킨 림프종(NHL), 버킷 림프종(BL), B 만성 림프구성 백혈병(B-CLL), B 및 T 급성

림프구성 백혈병(ALL), T 세포 림프종(TCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 모발성 세포 백혈병(HCL), 호지킨 림프종(HL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 다발성 골수종(MM)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 혈액 암이다.

[0297] 본 개시내용은 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1)를 포함하는 버전 1 (예를 들어, V1) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 백터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD8 힌지 서열 및 CD28 힌지 서열을 포함하는 긴 힌지 영역(예를 들어, 서열번호 19), (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) CD28 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 8) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 9)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 백터를 보유하고; (b) 상기 제1 백터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결되는, 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0298] 본 개시내용은 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1 및 도 2)를 포함하는 버전 2(예를 들어, V2) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 백터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)을 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) (1) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (2) CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9), 또는 (3) 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 백터를 보유하고; (b) 상기 제1 백터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결되는, 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 버전 2a(V2a) DAR 작제물은 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 버전 2b(V2b) DAR 작제물은 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 버전 2c(V2c) DAR 작제물은 4-1BB(예를 들어, 서열번호 7) 신호전달 서열 및 CD28(예를 들어, 서열번호 8) 신호전달 서열 및 ITAM 모티프 1, 2 및 3을 갖는 CD3-제타(예를 들어, 서열번호 9)을 갖는 세포내 신호전달 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, DAR V2a 및 V2b는 2세대 DAR 작제물인 반면, DAR V2c는 3세대 DAR 작제물이다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0299] 본 개시내용은 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇠(예를 들어, 도 1)를 포함하는 버전 3(예를 들어, V3) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 백터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 (a) 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 5개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 힌지 서열(예를 들어, 서열번호 5)를 포함하는 짧은 힌지 영역, (iv) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (v) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리

펩타이드 쇠를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 벡터를 보유하고; **(b)** 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL) (예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결되는, 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0300] 본 개시내용은 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법으로서, 대상체에게 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)을 보유하는 제1 폴리펩타이드 쇠 및 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)을 보유하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 포함하는 버전 4(예를 들어, V4) 이량체 항원 수용체(DAR) 작제물을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 벡터를 보유하는 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단을 투여함을 포함하고, 여기서 상기 숙주 세포 또는 숙주 세포 집단은 **(a)** 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 4개의 영역: (i) 항체 중쇄 가변 영역(VH), (ii) 항체 중쇄 불변 영역(CH), (iii) CD28 막관통 서열(예를 들어, 서열번호 6)을 포함하는 막관통 영역(TM) 및 (iv) 4-1BB 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 7) 및 ITAM 모티프 3만을 갖는 CD3-제타 신호전달 서열(예를 들어, 서열번호 20)을 포함하는 세포내 신호전달 영역을 포함하는 제1 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 제1 핵산에 작동 가능하게 연결된 제1 벡터를 보유하고; **(b)** 상기 제1 벡터는 아미노 말단으로부터 카복시 말단 방향으로 2개의 영역: (i) 항체 경쇄 가변 영역(VL)(예를 들어, 카파 또는 람다) 및 (ii) 항체 경쇄 불변 영역(CL)을 포함하는 제2 폴리펩타이드 쇠를 암호화하는 제2 핵산에 작동 가능하게 연결되는, 방법을 제공한다. DAR V4 작제물은 힌지 서열이 결여되어 있다. 일 실시형태에서, 항체 중쇄 가변 영역(VH)은 항-CD38 중쇄 가변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 1)을 포함하고 항체 중쇄 불변 영역(CH)은 항-CD38 중쇄 불변 영역 서열(예를 들어, 서열번호 2)을 포함한다.

[0301] 본 개시내용은 중앙 항원의 유해한 발현과 연관된 질환, 장애 또는 병태를 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하고, 여기서 상기 장애는 혈액 유방암, 난소암, 전립선암, 두경부암, 폐암, 방광암, 흑색종, 결장직장암, 췌장암, 폐암, 간암, 신장암, 식도암, 평활근종, 평활근육종, 신경교종 및 교모세포종을 포함하나 이에 한정되지 않는 암이다.

[0302] 일 실시형태에서, 암은 비호지킨 림프종(NHL), 버킷 림프종(BL), B 만성 림프구성 백혈병(B-CLL), B 및 T 급성 림프구성 백혈병(ALL), T 세포 림프종(TCL), 급성 골수성 백혈병(AML), 모발성 세포 백혈병(HCL), 호지킨 림프종(HL), 만성 골수성 백혈병(CML) 및 다발성 골수종(MM)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 혈액 암이다.

[0303] 실시예

[0304] 하기 실시예는 예시하기 위함이며, 본 개시내용의 실시형태를 추가로 이해하기 위해 사용될 수 있으며, 어떠한 방식으로든 본 교시내용의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0305] **실시예 1: 사람 PBMC 세포 및 1차 T 세포의 단리**

[0306] 1차 사람 T 세포는 버피 코트(San Diego Blood Bank), 신선한 혈액 또는 백혈구성분 채집술 생성물(StemCell)로부터, 건강한 사람 공여자로부터 단리하였다. 말초혈 단핵 세포는 밀도 구배 원심분리에 의해 단리하였다. T 세포는 제조업체의 지침에 따라 EasySep™ 사람 T 세포 단리 키트(STEMCELL)를 사용하여 자기 음성 선택에 의해 PBMC로부터 단리하였다.

[0307] **실시예 2: 1차 T 세포 배양**

[0308] 1차 T 세포를 300U/mL IL-2(Proleukin)와 함께 5% CTS™ Immune Cell SR(Thermo Fisher Scientific)이 보충된 CTS™ OpTmizer™ T 세포 확장 SFM에서 mL당 10⁶ 개 세포의 밀도로 배양하였다. 새로이 또는 냉동 탱크로부터 단리된 T 세포를 자극하였다. 세포를 2일 내지 3일 동안 mL당 T Cell TransAct(Miltenyi) 3uL/10⁶ 개 세포로 활성화하였다. 형질감염 후, T 세포를 300 U/mL의 IL-2와 함께 배지에서 배양하였다.

[0309] **실시예 3: 중앙 세포주**

[0310] 다발성 골수종 세포주 RPMI 8226은 ATCC로부터 입수하였고, 루시퍼라제 및 GFP 유전자를 보유하는 렌티바이러스를 사용하여 형질도입하였다. 루시퍼라제 및 GFP 발현을 갖는 단일 세포 클론(RPMI8226-FLuc)을 선택하였다. K562/RPE 세포는 K562 세포를 RPE 유전자를 보유하는 렌티바이러스로 형질도입함으로써 유사하게 생성하였다. 두 세포주 모두 10% 소 태아 혈청(Sigma)이 보충된 RPMI1640 배지(ATCC)에서 배양하였다.

- [0311] **실시예 4: CAR 및 DAR T 세포의 생성**
- [0312] 활성화된 T 세포에 CAR 또는 DAR 작제물을 암호화하는 핵산을 도입하였다.
- [0313] 항-CD38 CAR 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산은 중쇄 신호 펩타이드(서열 번호 10)에 이어 2개의 추가 아미노산 잔기 Asp 및 Ile, myc 태그 EQKLISEEDL(서열 번호 22), 항-CD38 중쇄 가변 영역(서열번호 1), 15 아미노산 링커 GGGGSGGGSGGGGS(서열번호 23), 항-CD38 경쇄 가변 영역(서열번호 3), CD8 힌지 영역(서열번호 21), CD28 힌지 영역(서열번호 5), CD28 막관통 영역(서열번호 6), CD28 세포내 신호전달 영역(서열번호 8) 및 CD3-제타 세포내 신호전달 영역(서열번호 9)을 포함하였다. 전체길이 항-CD38 CAR 작제물은 서열번호 22의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0314] 항-CD38 DAR 전구체 폴리펩타이드(예를 들어, V2a 또는 V3)를 암호화하는 핵산의 예는 서열 번호 15 또는 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0315] **실시예 5: 세포독성 검정**
- [0316] 전기천공 2 내지 3주 후, CAR, DAR 및 대조군 T 세포를 IL-2와 함께 밤새 영양 결핍 상태가 되게 하였다. 세포를 CD38 양성 RPMI-8226/GFP 세포 또는 CD38 음성 K562/RPE 세포의 표적 세포 혼합물과 함께 공동배양하였다. 이펙터 대 표적 세포의 비는 5:1 내지 0.08:1의 범위였다. 밤새 항온배양한 후, 세포를 유세포분석하여 GFP 세포 집단을 측정함으로써 항-CD38A2 CAR 및 DAR T 세포에 의한 특이적 표적 세포 사멸을 결정하였다.
- [0317] **실시예 6 : 사이토킨 분비 분석**
- [0318] 전기천공 2 내지 3주 후, CAR, DAR 및 대조군 T 세포를 IL-2와 함께 밤새 영양 결핍 상태가 되게 하였다. 세포를 CD38 음성 K562 또는 CD38 양성 RPMI 8226 세포와 함께 공동배양하였다. 이펙터 대 표적 세포의 비는 2:1이었다. 밤새 항온배양한 후, 세포를 원심분리하여, 제조업체의 지침에 따라 사이토킨 IL-2, IFN-감마 및 TNF 알파(Affymetrix eBioscience)를 검출하기 위한 상청액을 수집하였다.
- [0319] **실시예 7: 이펙터 기억 T 세포의 검출**
- [0320] DAR T 세포를 DPBS 5% 사람 혈청 알부민으로 세척한 다음, 4°C에서 30 내지 60분 동안 항-CD3-BV421 항체(SK7, BioLegend) 및 PE 또는 APC 접합된 CD38-Fc 단백질(Chimerigen Laboratories)로 염색하였다. CD3 및 CD38을 iQue Screener Plus(Intellicyte Co)를 사용하여 검출하였다. 이펙터 기억 T 세포 및 T 세포의 중심 기억 분획을 동정하기 위한 마커는 CD45RO(BioLegend) 및 CCR7(BioLegend)이었다.
- [0321] **실시예 8: 생체내 종양 사멸**
- [0322] 항-CD38A2 CART 또는 DART 세포의 종양과괴 활성을 RPMI8226 이종이식 마우스 모델에서 시험하였다. ATCC로부터 입수된 다발성 골수종 세포주 RPMI8226을 루시페라제 및 GFP 유전자를 갖는 렌티바이러스 벡터로 형질감염시켰다. 루시페라제 및 GFP 발현을 갖는 단일 클론(RPMI8226-FLuc)을 선택하였다. 총 7×10^6 개 세포의 RPMI8226-FLuc를 200 μ L PBS에 현탁시킨 다음, 각 마우스의 꼬리 정맥에 정맥내 주사하였다. IVIS 영상화로부터의 생물 발광에 기초하여 종양 존재량(tumor burden)이 매우 작거나 매우 큰 동물은 배제하였다. 연구에서 선택된 동물을 상이한 그룹으로 무작위 배정하였다.
- [0323] 약 1000만 개의 조작된 CAR 또는 DAR T 세포의 단일 처리물을 종양 접종 후 3주차에 200 μ L의 PBS 중에서 꼬리 정맥을 통해 투여하였다. 동일한 양의 ATC 또는 TRAC KO T 세포 또는 200 μ L의 PBS를 처리 대조군으로서 정맥내 투여하였다.
- [0324] 종양 세포 접종 후, 처리 후 4주차 또는 5주차까지 매주 각 마우스의 등쪽에서 IVIS Lumina III In Vivo Imaging System(Perkin Elmer Health Sciences, Inc)을 사용하여 총 광자속(photon flux)을 측정하여 종양 성장을 모니터링하였다. 150 mg/kg 루시페린 복강내 투여 후 약 10 내지 20분차에 영상을 촬영하였다.
- [0325] **실시예 9: DAR V1 작제물을 발현하는 T 세포의 결과**
- [0326] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) 버전 1을 발현하는 트랜스제닉 T 세포의 발현 수준을 유세포분석을 사용하여 비교하였다. 트랜스제닉 T 세포는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 높은 수준의 버전 1 DAR 작제물을 발현한다(도 9).
- [0327] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) 버전 1을 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 시험관내 세포독성 검정으로 비교하였다. 버전 1 DAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(B 점선)

는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 C)와 비교하여 시험관내 세포 사멸에서 유사하였지만, 더 우수하지는 않았다(도 10).

[0328] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) 버전 1을 발현하는 T 세포의 사이토킨 분비 능력을 시험관내 사이토킨 분비 검정으로 비교하였다. 버전 1 DAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포와 비교하여 더 높은 수준의 종양 괴사 인자 알파(TNF α) 분비(도 14) 및 IL-2 분비(도 15)를 나타냈지만 인터페론 감마(IFN γ) 수준은 더 낮았다(도 13).

[0329] RPMI 8226 또는 K562 종양 표적 세포와 공동배양된 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) 버전 1을 발현하는 T 세포의 시험관내 클론 증대 능력을 유세포분석을 사용하여 비교하였다. 버전 1 DAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 작제물을 발현하는 T 세포와 유사한 배수-변화 증대를 나타냈다(도 16 및 도 17).

[0330] **실시예 10: DAR V2b 작제물을 발현하는 T 세포의 결과**

[0331] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V1 또는 V2b를 발현하는 트랜스제닉 T 세포의 발현 수준을 유세포분석을 사용하여 비교하였다. 트랜스제닉 T 세포는 DAR V1 또는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 높은 수준의 DAR V2b 작제물을 발현한다(도 11).

[0332] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V1 또는 V2b를 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 시험관내 세포독성 검정으로 비교하였다. DAR V2b 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(C 점선)는 DAR V1 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 B)에 비해 더 우수한 시험관내 세포 사멸을 나타냈고, DAR V2b 발현 T 세포는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 D)와 비교하여 시험관내 세포 사멸에서 유사하였다(도 12).

[0333] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a, V2b 또는 V2c 작제물을 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 시험관내 세포독성 검정으로 비교하였다. DAR V2b 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포("28Z" 선 E)는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 B) 및 DAR V2a를 발현하는 T 세포("BBZ" 선 C)에 비해 현저하게 더 우수한 시험관내 세포 사멸을 나타냈으며, DAR V2c를 발현하는 T 세포("28BBZ" 점선 D)와 비교하여 유사한 사멸 능력을 나타냈다(도 26).

[0334] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V1 또는 V2b를 발현하는 T 세포의 사이토킨 분비 능력을 시험관내 사이토킨 분비 검정으로 비교하였다. DAR V2b 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 또는 DAR V1 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 높은 수준의 IL-2 분비를 나타냈다(도 15). DAR V2b 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 약간 더 높은 수준의 인터페론-감마(IFN γ) 분비를 나타냈고(도 13), DAR V1 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 높은 수준을 나타냈다. DAR V2b 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 또는 DAR V1 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 낮은 수준의 종양 괴사 인자 알파(TNF α) 분비를 나타냈다(도 14).

[0335] 유세포분석을 사용하여, RPMI 8226 또는 K562 세포와 공동배양된 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V1 또는 V2b를 발현하는 T 세포의 시험관내 클론 증대 능력을 측정하였다. DAR V2b 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는, RPMI 8226 세포와 공동배양될 때, CAR 또는 DAR V1 작제물을 발현하는 T 세포에 비해 더 높은 수준의 배수 변화 증대를 나타냈다(도 16 및 도 17).

[0336] 생체내 이중이식 동물 모델을 사용하여 이중이식 동물 모델에서의 CD38 DAR T 세포의 종양과괴 활성을 측정하였다. 음성 대조군 마우스에게는 포스페이트-완충 식염수 또는 녹아웃된 TRAC 유전자를 보유한 세포주를 투여하였다. 시험 마우스에게는 CD38 CAR 또는 CD38 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포를 투여하였다. 4주 차에, CD38 DAR(V2b) 작제물을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스는 CD38 CAR 작제물을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스에 비해 유의하게 적은 종양 존재량을 나타냈다(도 18).

[0337] **실시예 11: DAR V2c 작제물을 발현하는 T 세포의 결과**

[0338] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a, V2b 또는 V2c 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포의 발현 수준을 유세포분석을 사용하여 비교하였다. 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2b(예를 들어, "BBZ")를 발현하는 트랜스제닉 T 세포와 비교하여 유사한 수준의 DAR V2c(예를 들어, "28BBZ") 작제물을 발현하고, DAR V2b("28Z") 작제물을 발현하는 T 세포와 비교하여 약간 더 높은 수준의 DAR V2c("28BBZ")이 발현된다(도 25).

- [0339] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a, V2b 또는 V2c 작제물을 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 시험관내 세포독성 검정으로 비교하였다. DAR V2c 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포("28BBZ" 점선 D)는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 B) 및 DAR V2a 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 C)에 비해 현저하게 더 높은 수준의 시험관내 세포 사멸을 나타냈지만, DAR V2b를 발현하는 T 세포("28Z" 선 E)와 비교하여 유사한 수준의 세포 사멸을 나타냈다(도 26).
- [0340] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a 또는 V2b 작제물을 발현하는 T 세포의 사이토킨 분비 능력을 시험관내 사이토킨 분비 검정으로 비교하였다. DAR V2a("BBZ")를 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2b("28Z") 작제물을 발현하는 T 세포에 비해 약간 더 높은 수준의 IL-2 분비를 나타냈고, CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 높은 수준을 나타냈다(도 27). DAR V2b("BBZ") 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 또는 DAR V2b("28Z") 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 약간 더 높은 수준의 종양 괴사 인자 알파(TNF α) 분비를 나타냈다(도 28). DAR V2b("BBZ") 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 약간 더 높은 수준의 인터페론-감마(IFN γ) 분비를 나타냈지만, DAR V2b("BBZ")를 발현하는 세포는 DAR V2b("28Z") 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 약간 더 낮은 수준의 IFN γ 분비를 나타냈다(도 29).
- [0341] 생체내 이종이식 동물 모델을 사용하여 이종이식 동물 모델에서의 CD38 DAR T 세포의 종양과괴 활성을 측정하였다. 음성 대조군 마우스에게는 포스페이트-완충 식염수("PBS") 또는 녹아웃된 TRAC 유전자("TRAC KO")를 보유한 세포주를 투여하였다. 시험 마우스에게는 CD38 CAR 또는 CD38 DAR(V2a) 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포를 투여하였다. 4주차에, CD38 DAR(V2a) 작제물을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스는 CD38 CAR 작제물을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스에 비해 유의하게 적은 종양 존재량을 나타냈다(도 19).
- [0342] CD38 DAR V2a 작제물을 발현하는 T 세포의 종양과괴 활성을 다른 생체내 이종이식 동물 모델에서 DAR V2b 또는 DAR V2c를 발현하는 T 세포와 직접 비교하였다. 음성 대조군 마우스에게는 포스페이트-완충 식염수("PBS") 또는 활성화된 T 세포("ATC") 또는 녹아웃된 TRAC 유전자("TRAC KO")를 보유하는 세포주를 투여하였다. 시험 마우스에게는 CD38 DAR V2a, V2b 또는 V2c 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포를 투여하였다. 5주차에, CD38 DAR V2a 작제물("BBZ")을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스는 CD38 CAR V2b("28Z") 또는 V2c("28BBZ") 작제물을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스에 비해 어느 정도 적은 종양 존재량을 나타냈다(도 30).
- [0343] **실시예 12 : DAR V2a 작제물을 발현하는 T 세포의 결과**
- [0344] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a 또는 V2b 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포의 발현 수준을 유세포분석을 사용하여 비교하였다. 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2b(예를 들어, "28Z") 또는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포와 비교하여 더 높은 수준의 DAR V2a(예를 들어, "BBZ") 작제물을 발현한다(도 25).
- [0345] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a, V2b 또는 V2c 작제물을 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 시험관내 세포독성 검정으로 비교하였다. DAR V2a 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포("BBZ" 선 C)는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 B)에 비해 더 우수한 시험관내 세포 사멸을 나타냈지만, DAR V2b를 발현하는 T 세포("28Z"선 E) 또는 DAR V2c를 발현하는 T 세포("28BBZ" 점선 D)에 비해 더 낮은 세포사멸 수준을 나타냈다(도 26).
- [0346] 항-CD38 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a 또는 V2b 작제물을 발현하는 T 세포의 사이토킨 분비 능력을 시험관내 사이토킨 분비 검정으로 비교하였다. DAR V2a("BBZ")를 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2b("28Z") 작제물을 발현하는 T 세포에 비해 약간 더 높은 수준의 IL-2 분비를 나타내었고, CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 높은 수준을 나타냈다(도 27). DAR V2b("BBZ") 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 또는 DAR V2b("28Z") 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 약간 더 높은 수준의 종양 괴사 인자 알파(TNF α) 분비를 나타냈다(도 28). DAR V2b("BBZ") 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 CAR 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 약간 더 높은 수준의 인터페론-감마(IFN γ) 분비를 나타냈지만, DAR V2b("BBZ")를 발현하는 세포는 DAR V2b("28Z") 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 약간 낮은 수준의 IFN γ 분비를 나타냈다(도 29).
- [0347] 생체내 이종이식 동물 모델을 사용하여 이종이식 동물 모델에서의 CD38 DAR T 세포의 종양과괴 활성을 측정하였다. 음성 대조군 마우스에게는 포스페이트-완충 식염수("PBS") 또는 녹아웃된 TRAC 유전자("TRAC KO")를 보유한 세포주를 투여하였다. 시험 마우스에게는 CD38 CAR 또는 CD38 DAR(V2a) 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포를

투여하였다. 4 주차에, CD38 DAR(V2a) 작제물을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스는 CD38 CAR 작제물을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스에 비해 상당히 적은 종양 존재량을 나타냈다(도 19).

[0348] CD38 DAR V2a 작제물을 발현하는 T 세포의 종양과괴 활성을 또 다른 생체내 이종이식 동물 모델에서 DAR V2b 또는 DAR V2c를 발현하는 T 세포와 직접 비교하였다. 음성 대조군 마우스에게는 포스페이트-완충 식염수("PBS") 또는 활성화된 T 세포("ATC") 또는 녹아웃된 TRAC 유전자("TRAC KO")를 보유하는 세포주를 투여하였다. 시험 마우스에게는 CD38 DAR V2a, V2B 또는 V2c 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포를 투여하였다. 5주차에, CD38 DAR V2a 작제물("BBZ")을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스는 CD38 CAR V2b("28Z") 또는 V2c("28BBZ") 작제물을 발현하는 T 세포로 처리된 마우스에 비해 어느 정도 적은 종양 존재량을 나타냈다(도 30).

[0349] **실시예 13 : DAR V3 작제물을 발현하는 T 세포의 결과**

[0350] 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a 또는 V3 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포의 발현 수준을 유세포분석을 사용하여 비교하였다. 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2a를 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 높은 수준의 DAR V3 작제물을 발현한다(도 20 및 도 31).

[0351] 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a 또는 V3 작제물을 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 시험관내 세포독성 검정으로 비교하였다. DAR V3을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 C)는 DAR V2a 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 B)에 비해 더 높은 수준의 시험관내 세포 사멸을 나타냈다(도 21).

[0352] 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a 또는 V3 작제물을 발현하는 T 세포의 사이토킨 분비 능력을 시험관내 사이토킨 분비 검정으로 비교하였다. DAR V3를 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2a를 발현하는 T 세포에 비해 현저하게 더 높은 수준의 인터페론-감마(IFN γ) 분비를 나타냈다(도 22). DAR V3를 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2a 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 현저하게 더 높은 수준의 종양 괴사 인자 알파(TNF α) 분비를 나타냈다(도 23).

[0353] 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a 또는 V3을 발현하는 T 세포의 사이토킨 분비 능력을 시험관내 사이토킨 분비 검정으로 비교하였다. DAR V3 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 V2a 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 현저하게 더 높은 수준의 인터페론 감마(IFN γ) 분비를 나타냈다(도 33). DAR V3 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2a 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 낮은 수준의 종양 괴사 인자 알파(TNF α) 분비를 나타냈다(도 34).

[0354] 유세포분석을 사용하여, DAR V2a 또는 V3 작제물을 발현하는 T 세포 집단에서 중심 기억 T 세포 (TCM)의 존재를 검출하였다. DAR V3 작제물을 발현하는 T 세포는 DAR V2a를 발현하는 T 세포에 비해 더 높은 백분율의 중심 기억 T 세포(TCM)를 나타냈다(도 24).

[0355] 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a 또는 V3 작제물을 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 시험관내 세포독성 검정으로 비교하였다. DAR V2a 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포(점선 C)는 DAR V3를 발현하는 트랜스제닉 T 세포(선 D)와 비교하여 유사한 수준의 시험관내 세포 사멸을 나타냈다(도 32).

[0356] **실시예 14 : DAR V4 작제물을 발현하는 T 세포의 결과**

[0357] 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a, V3 또는 V4 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포의 발현 수준을 유세포 분석을 사용하여 비교하였다. 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2a 또는 V4 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 높은 수준의 DAR V3 작제물을 발현한다(도 31).

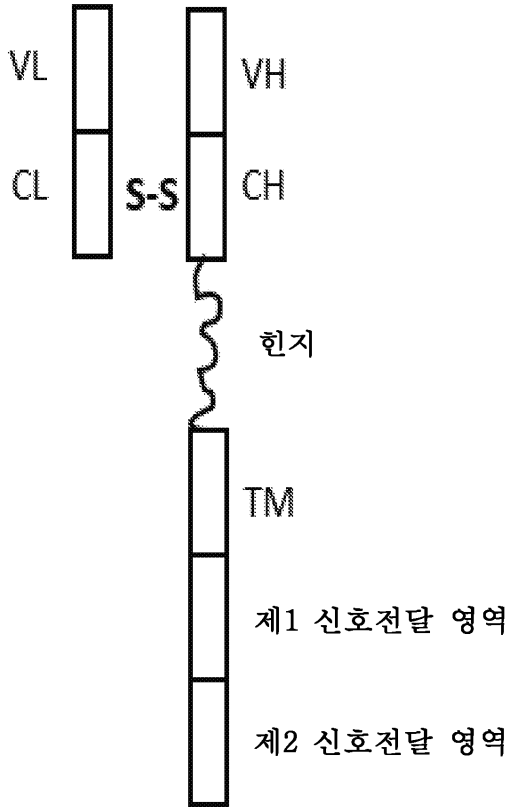
[0358] 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a, V3 또는 V4 작제물을 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 시험관내 세포독성 검정으로 비교하였다. DAR V4 작제물(선 B)을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 DAR V2a 작제물(점선 C) 또는 DAR V3(선 D)를 발현하는 트랜스제닉 T 세포와 비교하여 유사한 수준의 시험관내 세포 사멸을 나타냈다(도 32). DAR V4 작제물은 힌지 영역이 결여되어 있고, 세포 사멸 결과는, 힌지 영역이 없는 DAR 작제물, 둘 다 짧은 힌지 영역(예를 들어, CD28 힌지 서열만)을 포함하는 V2a 또는 V3 작제물을 발현하는 T 세포에 비해 DAR V4 작제물을 발현하는 T 세포의 세포 사멸 능력을 개선시키지 않음을 가리킨다.

[0359] 항-CD38 이량체 항원 수용체(DAR) V2a, V3 또는 V4 작제물을 발현하는 T 세포의 사이토킨 분비 능력을 시험관내 사이토킨 분비 검정으로 비교하였다. DAR V4 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 DAR V3 작제물을 발현하는 T 세포에 비해 현저하게 감소된 수준의 인터페론-감마(IFN γ) 분비를 나타냈다(도 33). DAR V4 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포는 DAR V3 작제물을 발현하는 트랜스제닉 T 세포에 비해 더 낮은 수준의 종양 괴사 인자

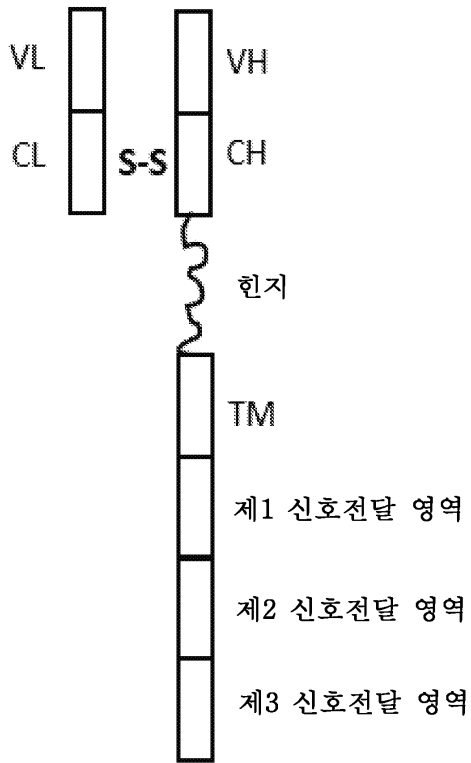
알파(TNF α) 분비를 나타냈다(도 34).

도면

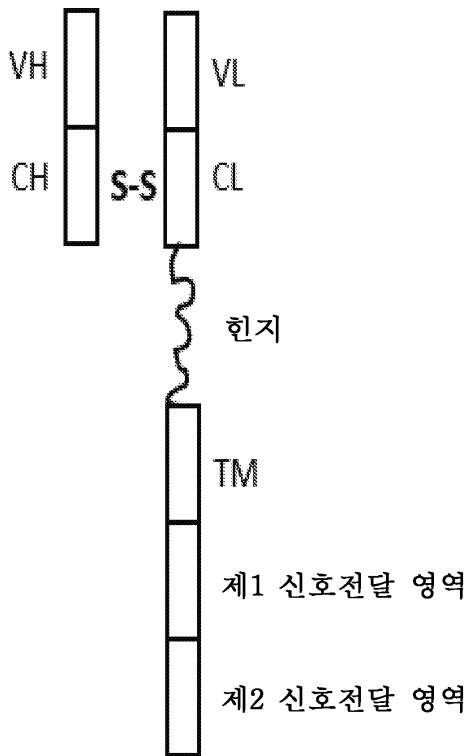
도면1



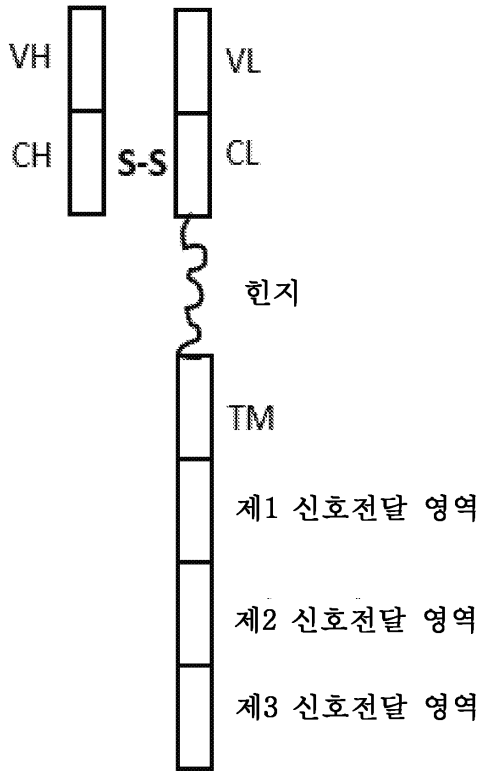
도면2



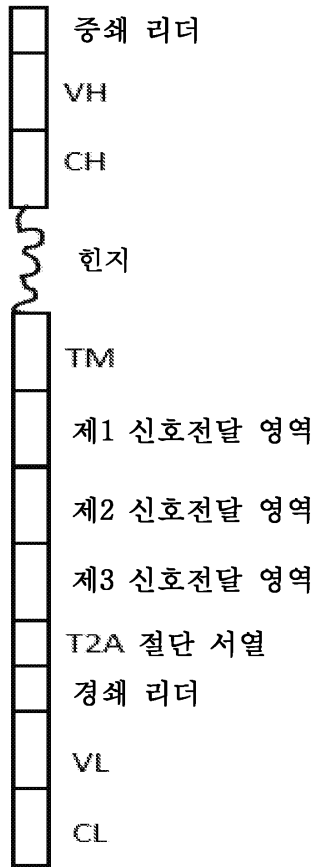
도면3



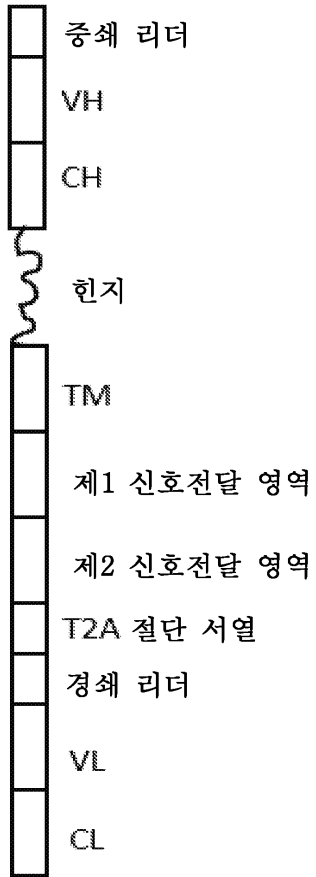
도면4



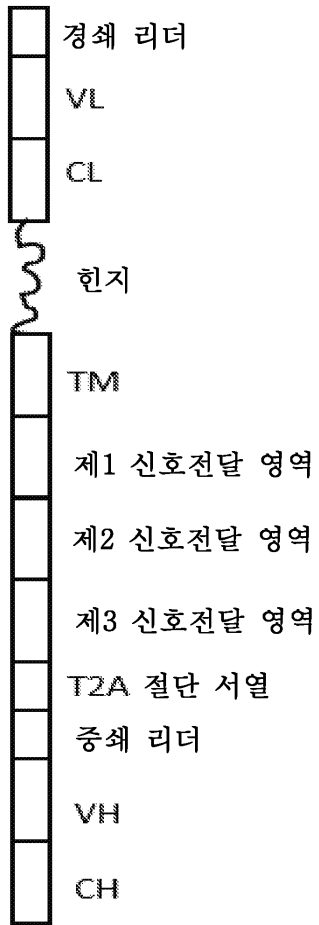
도면5



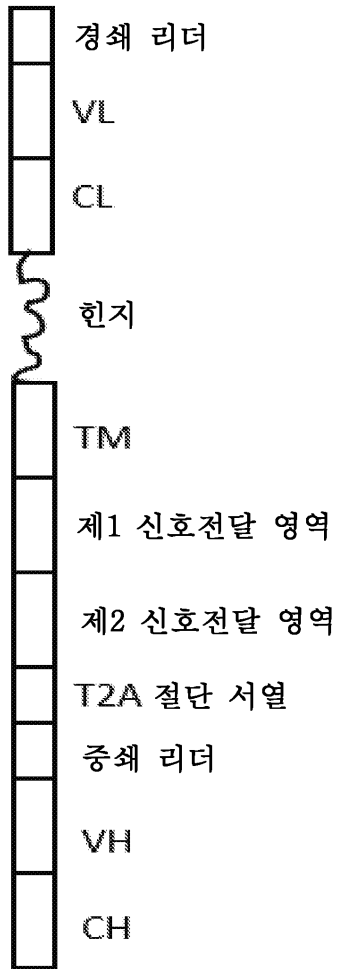
도면6



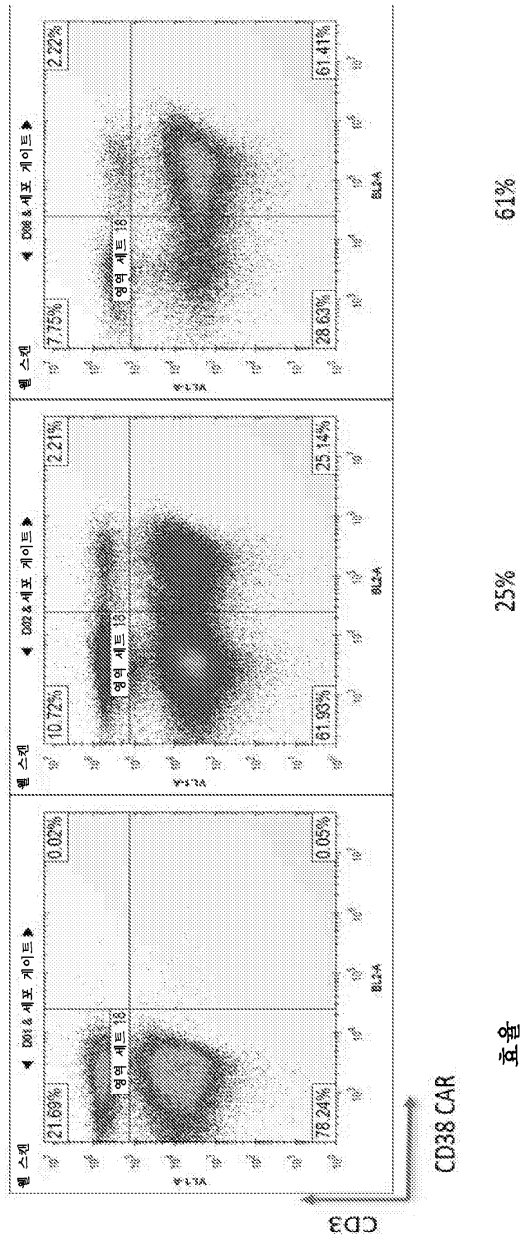
도면7



도면8

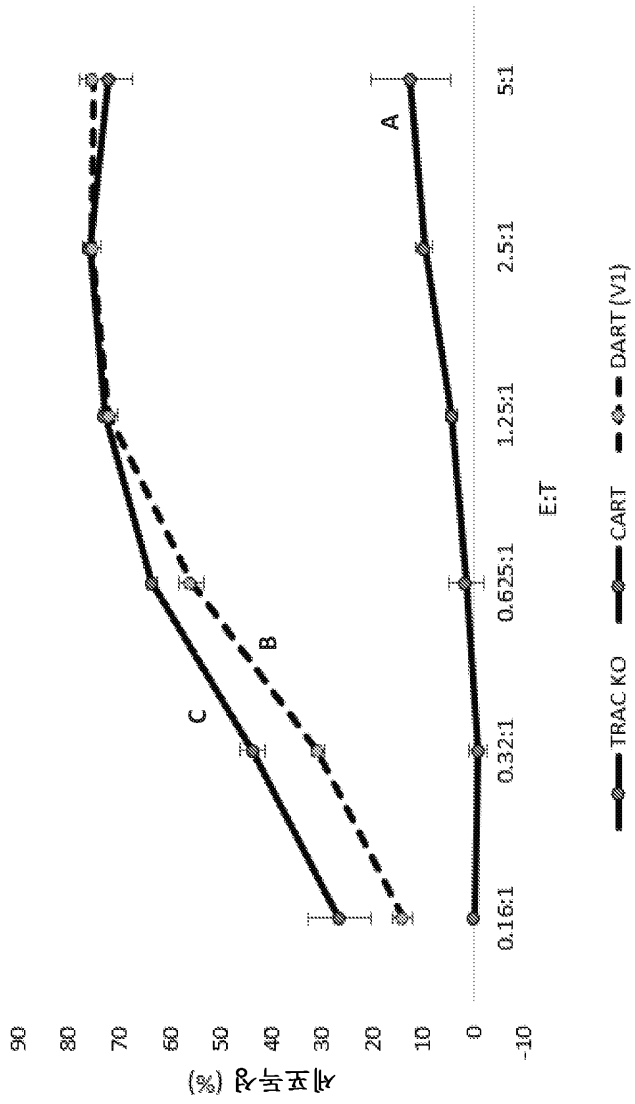


도면9

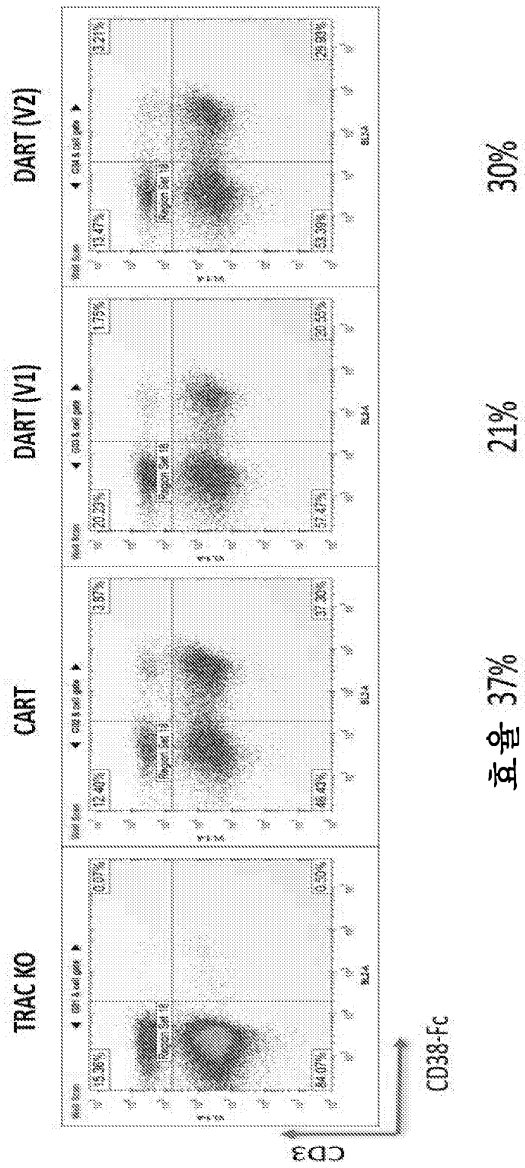


도면10

항-CD38A2 DART에 의한 RPMI8226 세포의 특이적 사멸

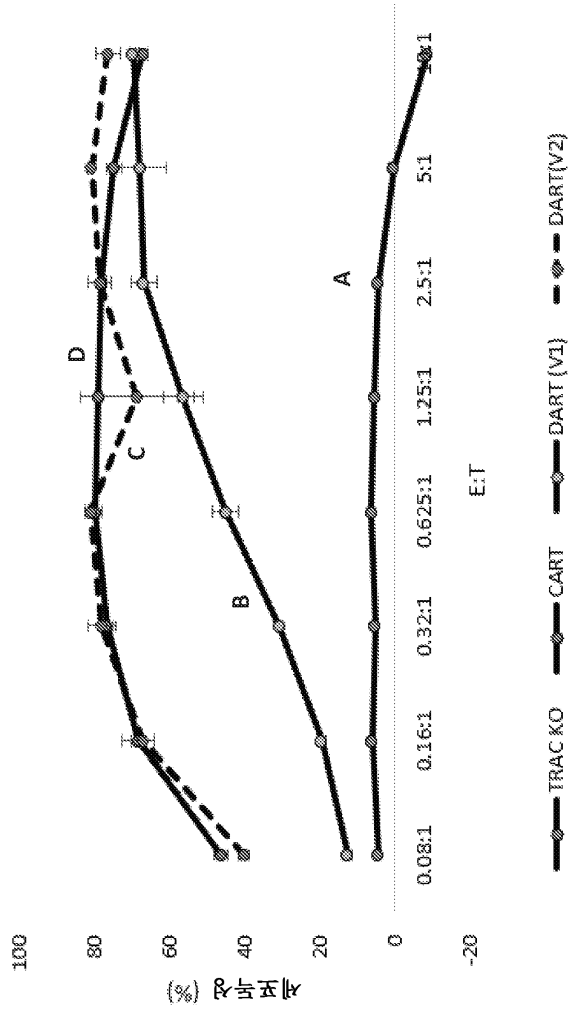


도면11

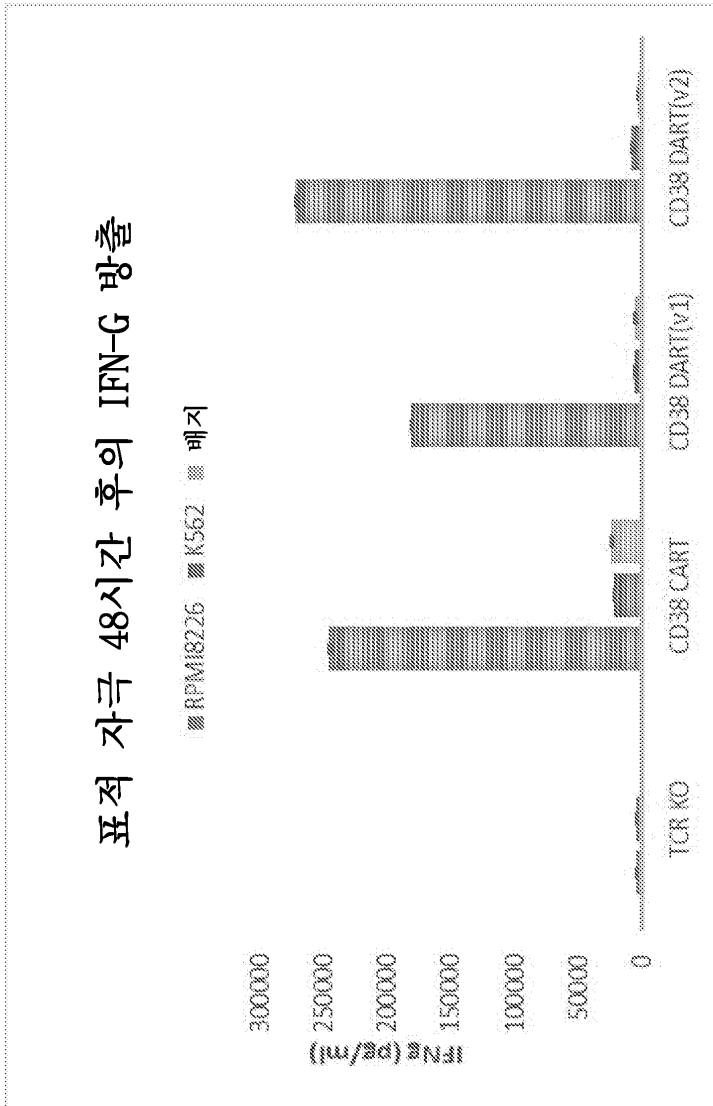


도면12

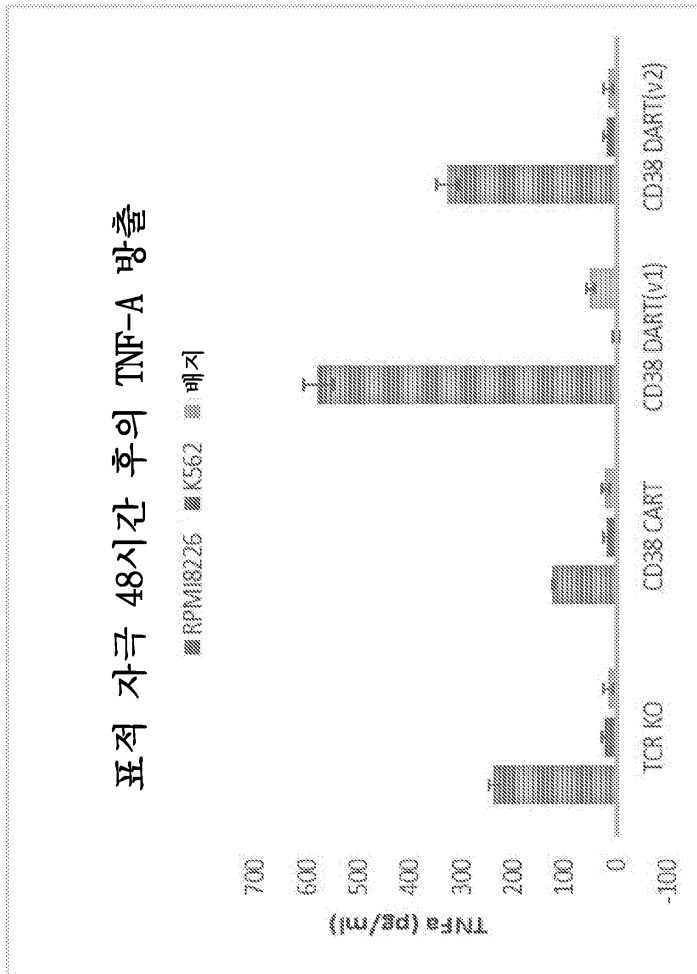
항-CD38 CART에 의한 RPMI8226의 특이적 사멸
(1일)



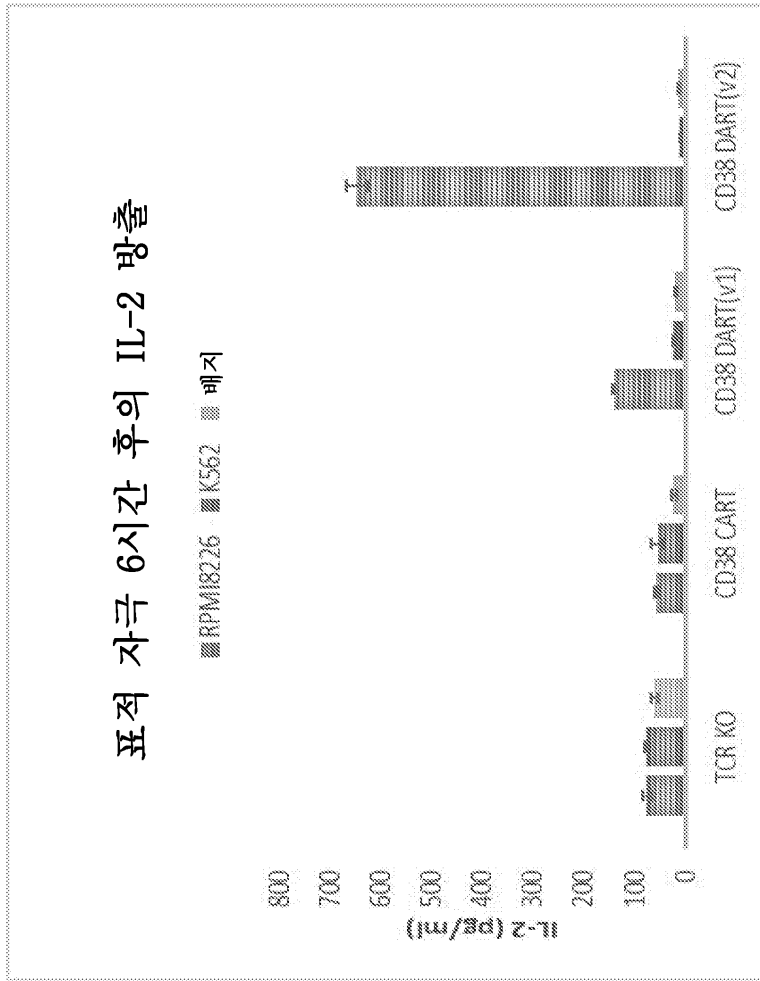
도면13



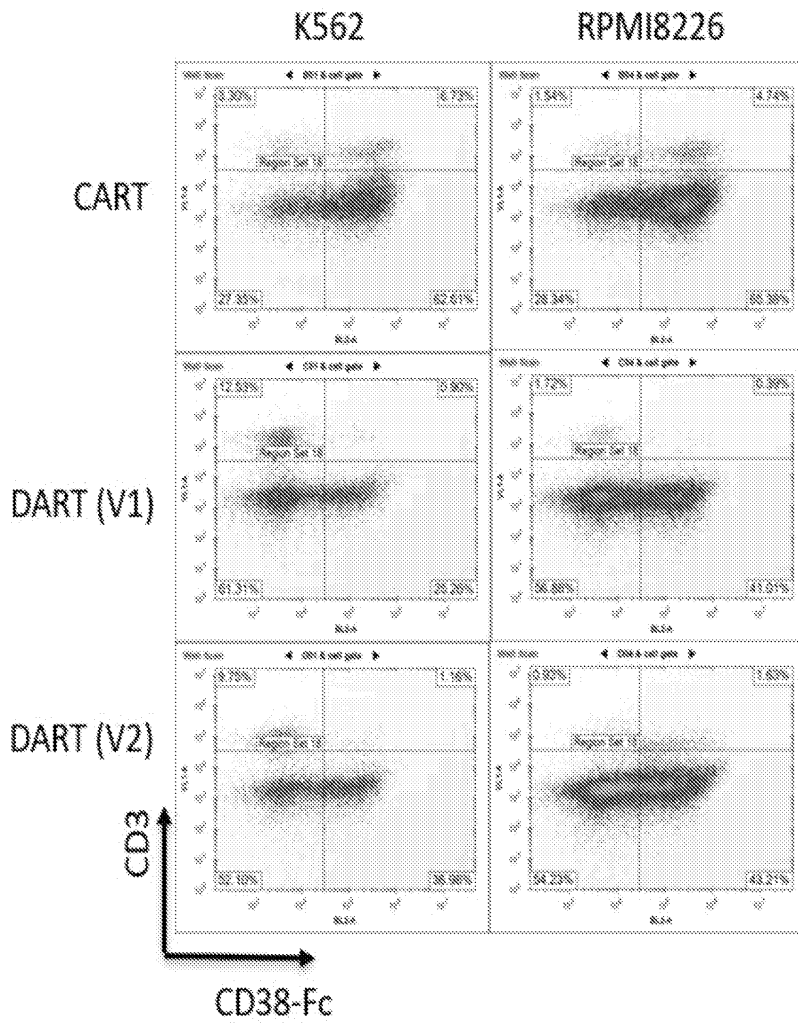
도면14



도면15

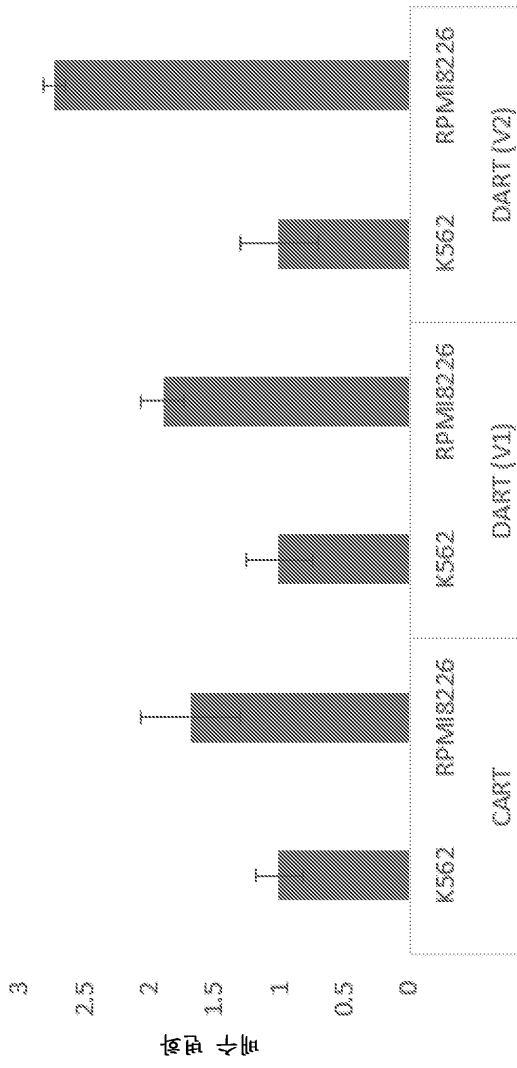


도면16

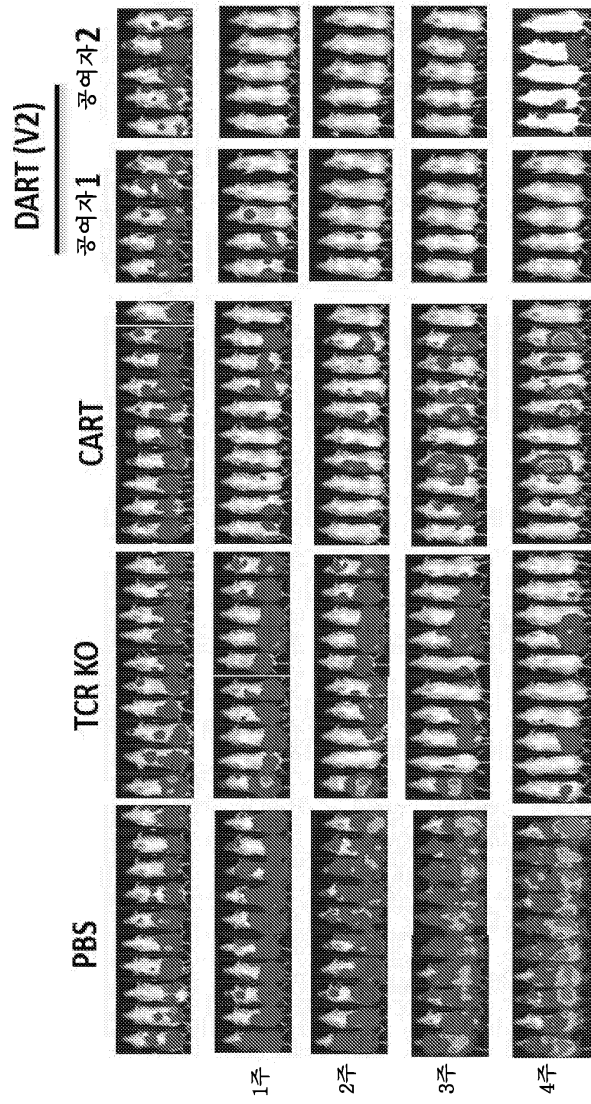


도면17

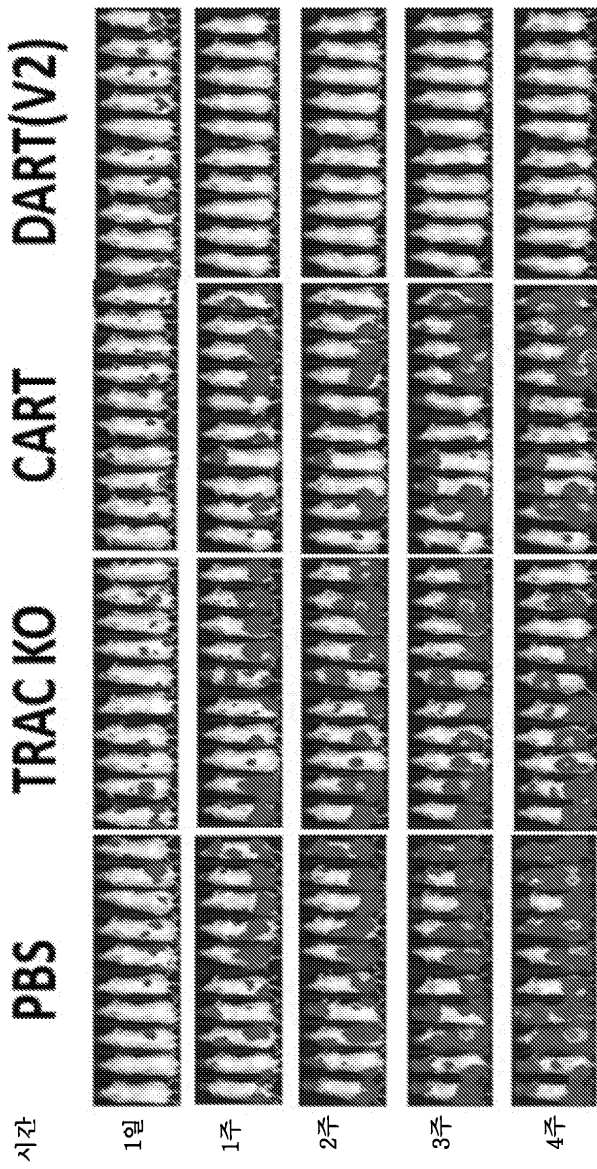
RPMI8226 종양 세포와 함께 공동배양될 때
항-CD38 CART 세포의 클론 증대



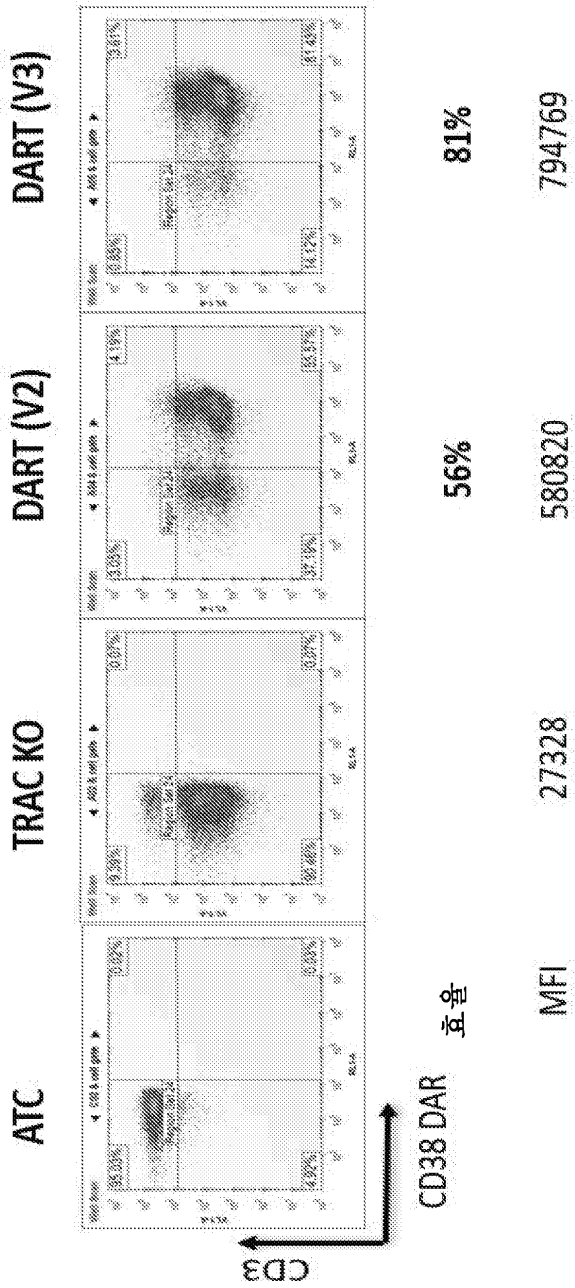
도면18



도면19

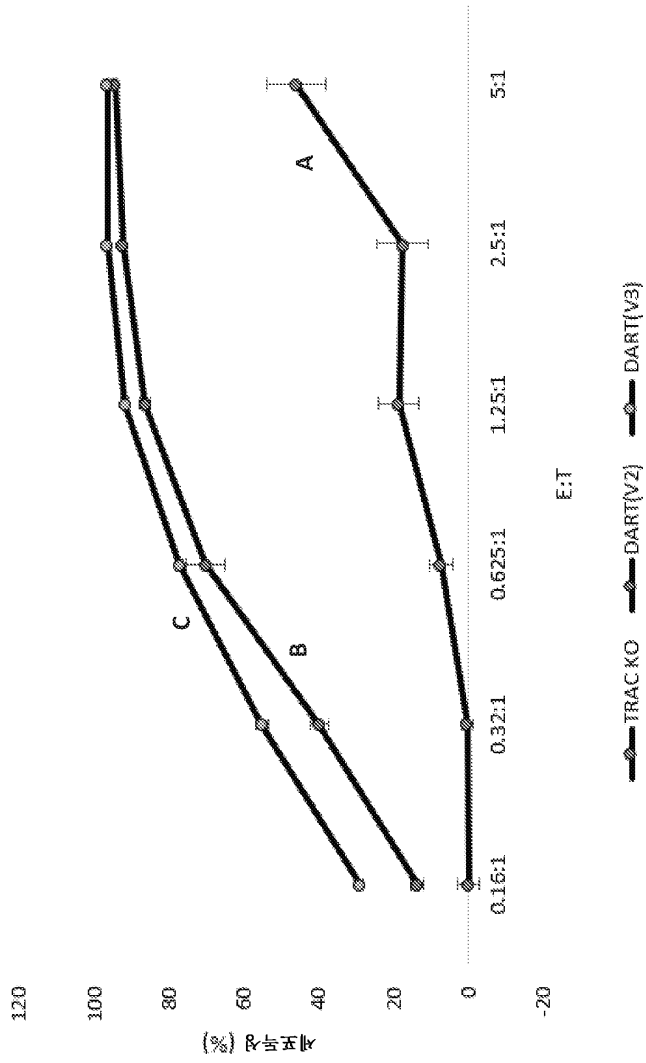


도면20

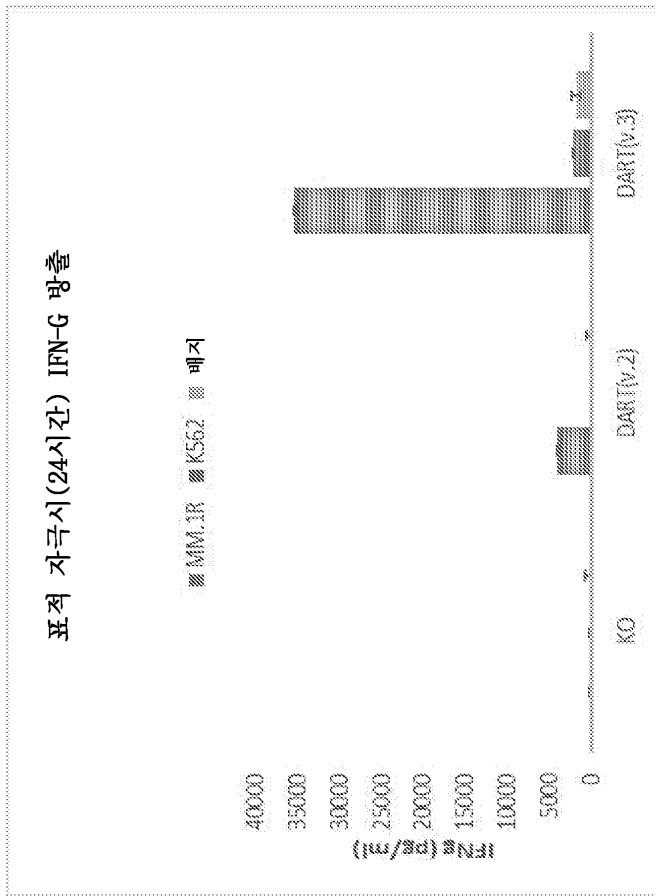


도면21

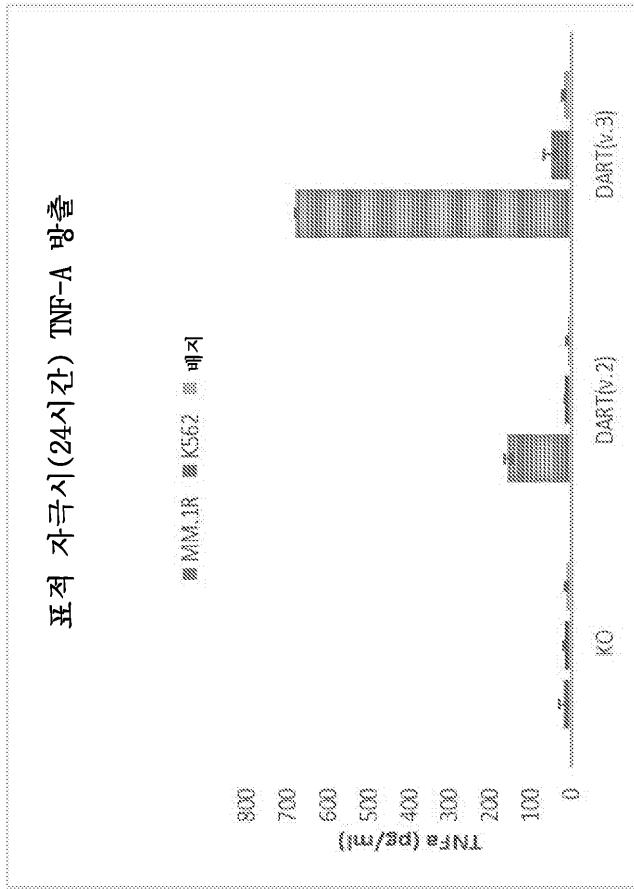
단축된 CD3는 DART의 사멸 능력을 개선시켰다



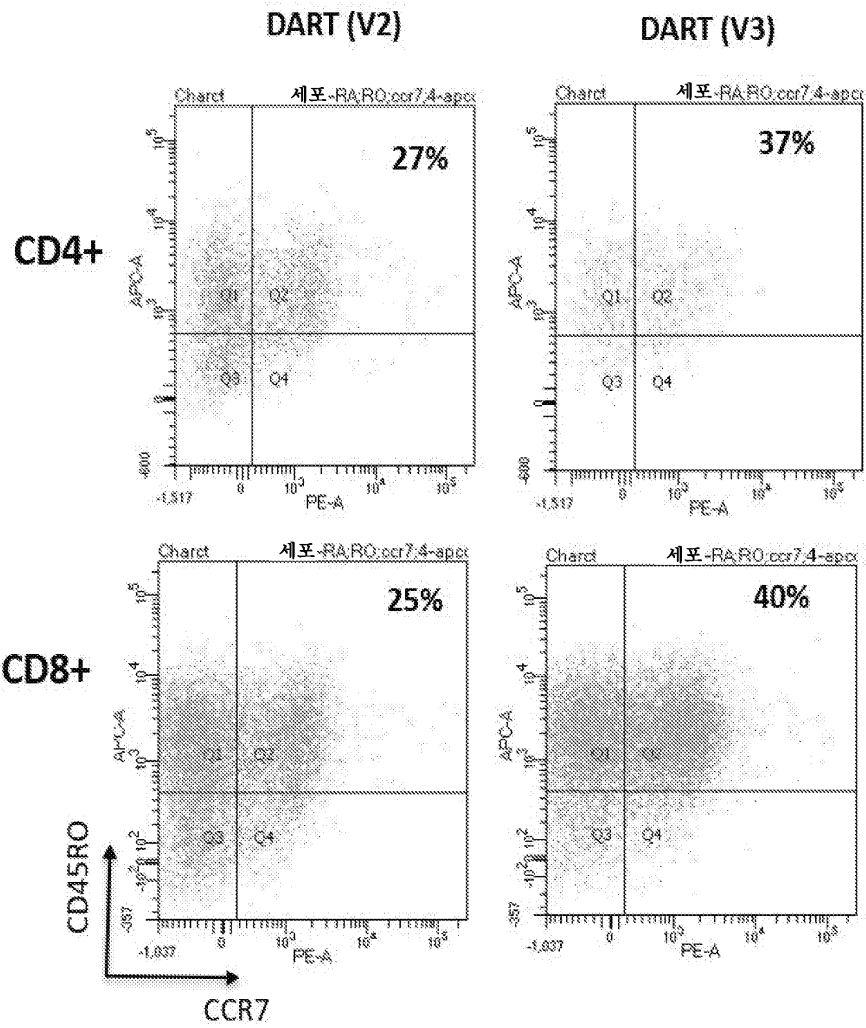
도면22



도면23



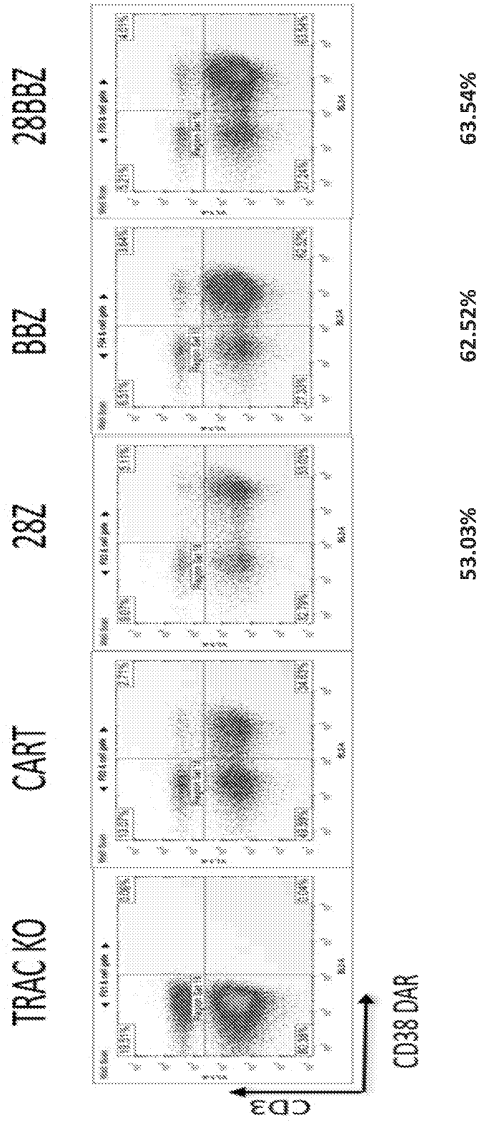
도면24



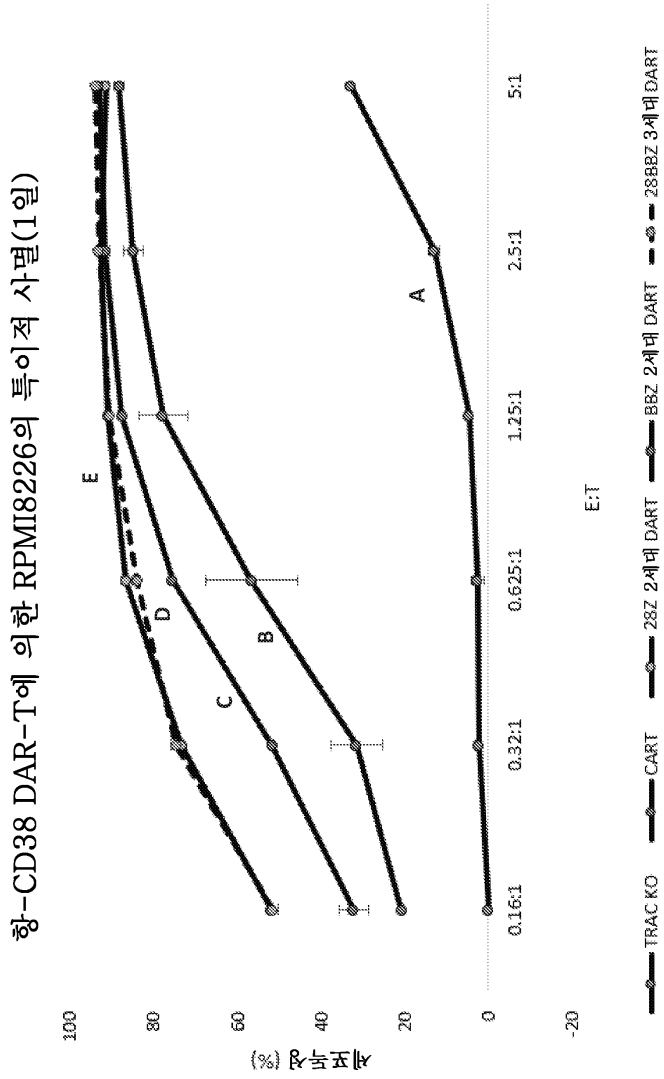
도면25

3세대 DART

2세대 DART

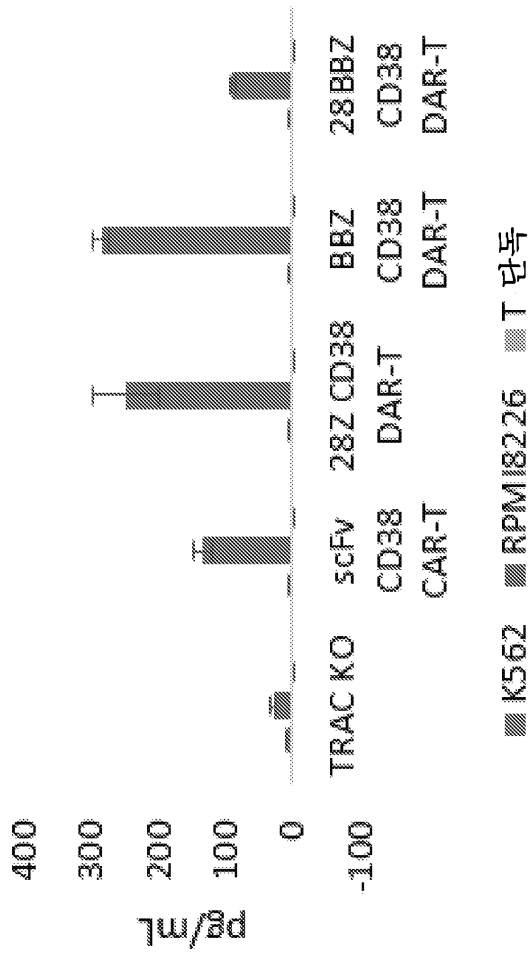


도면26



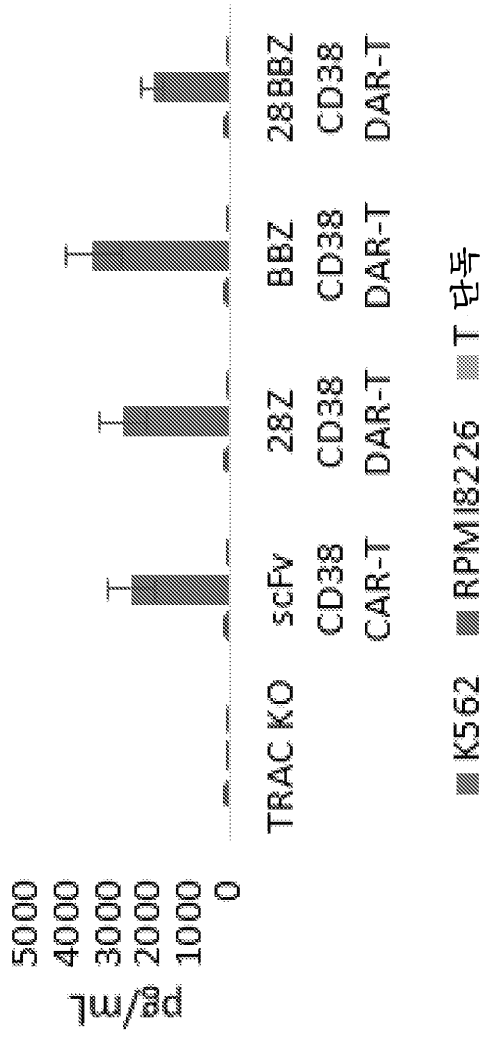
도면27

항-CD38 DAR-T에 의한 IL-2 분비



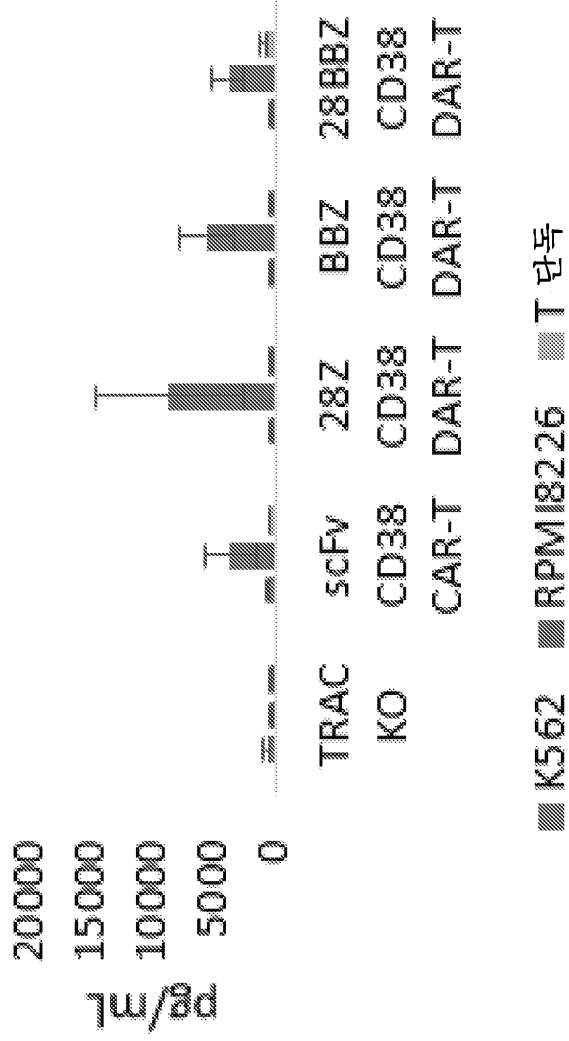
도면28

항-CD38 DAR-T에 의한 TNF 알파 분비

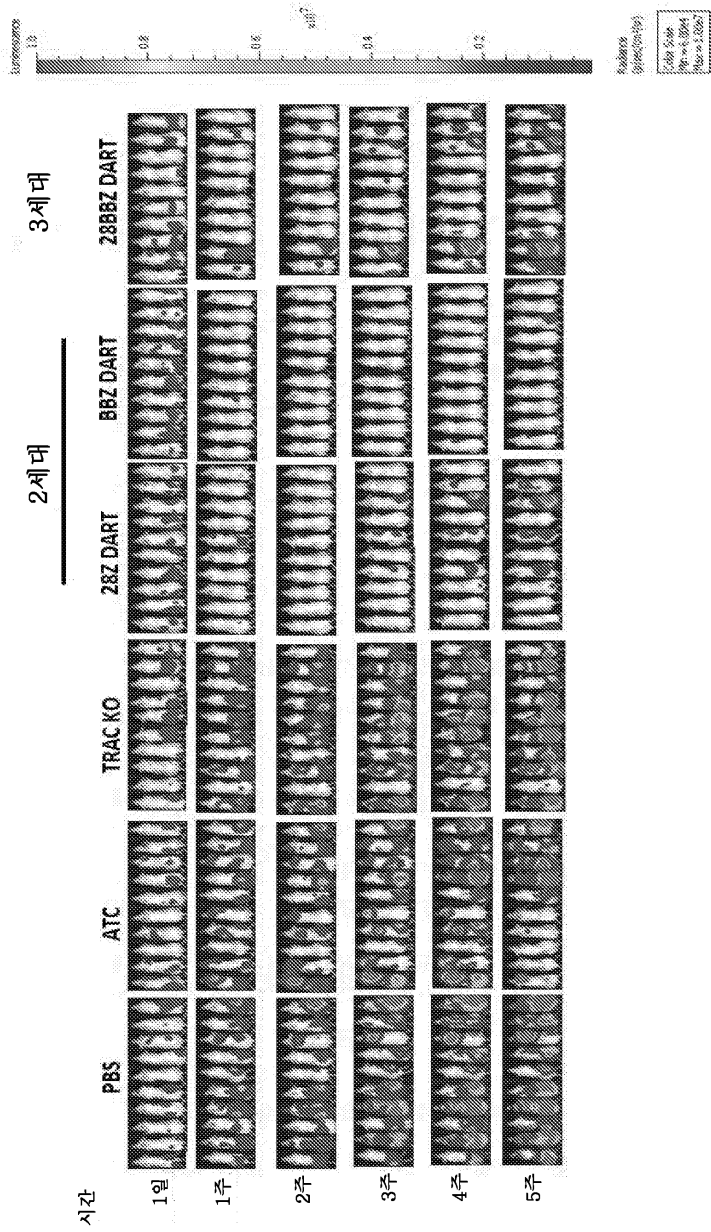


도면29

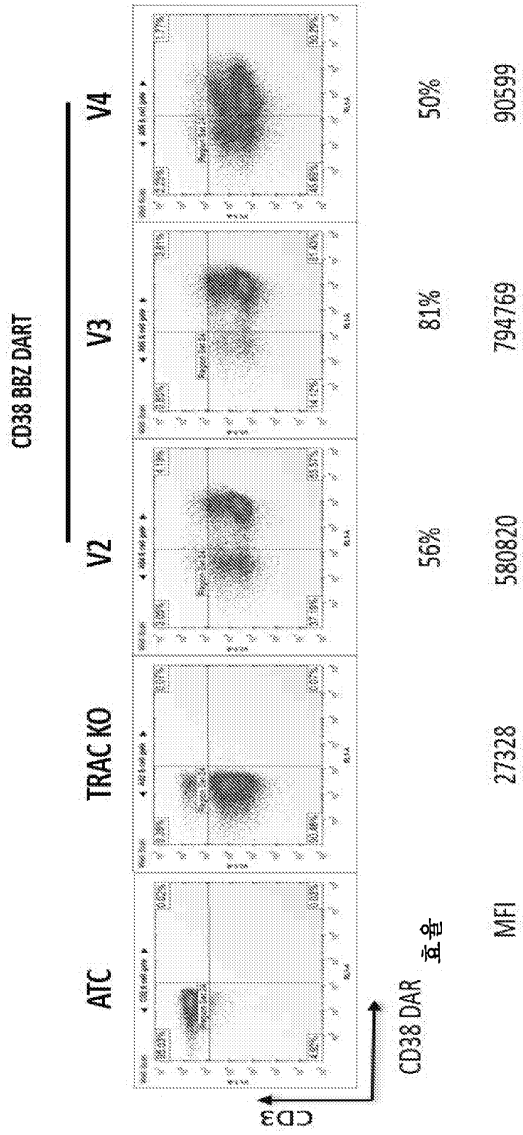
항-CD38 DAR-T에 의한 IFN 감마 분비



도면30

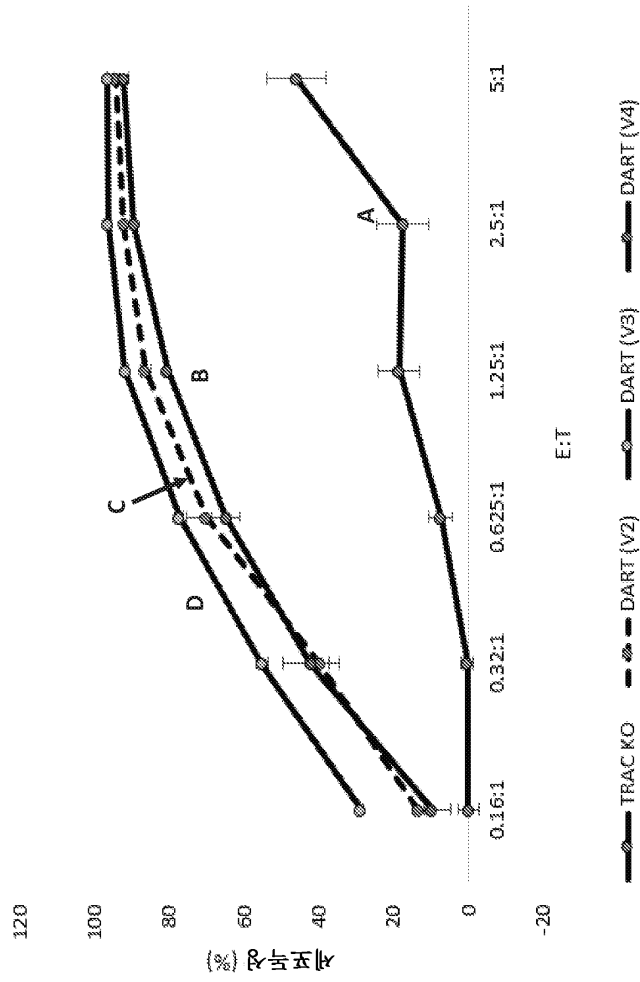


도면31

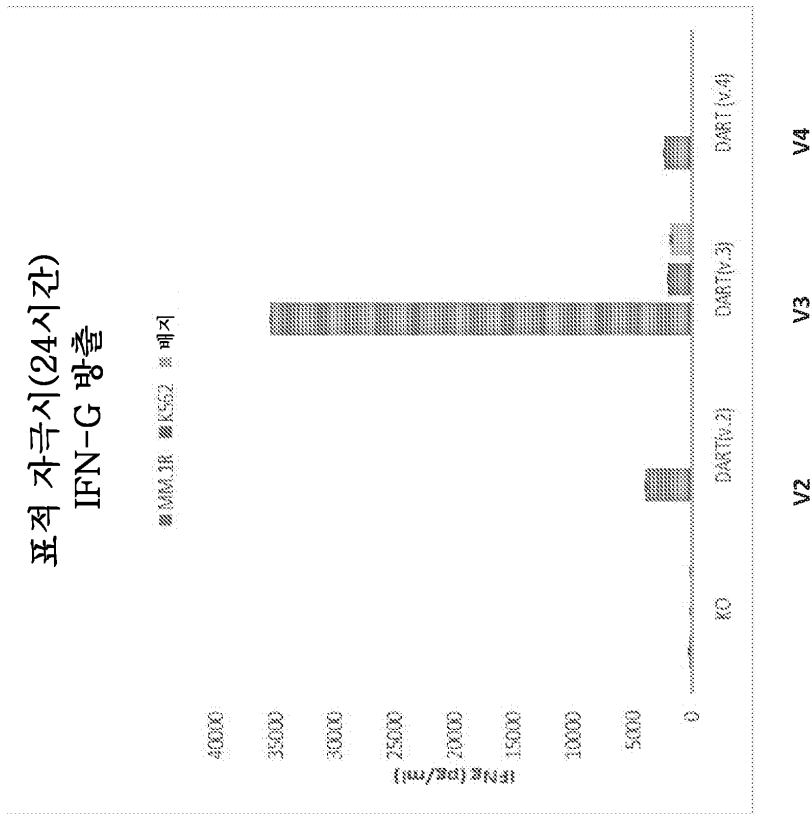


도면32

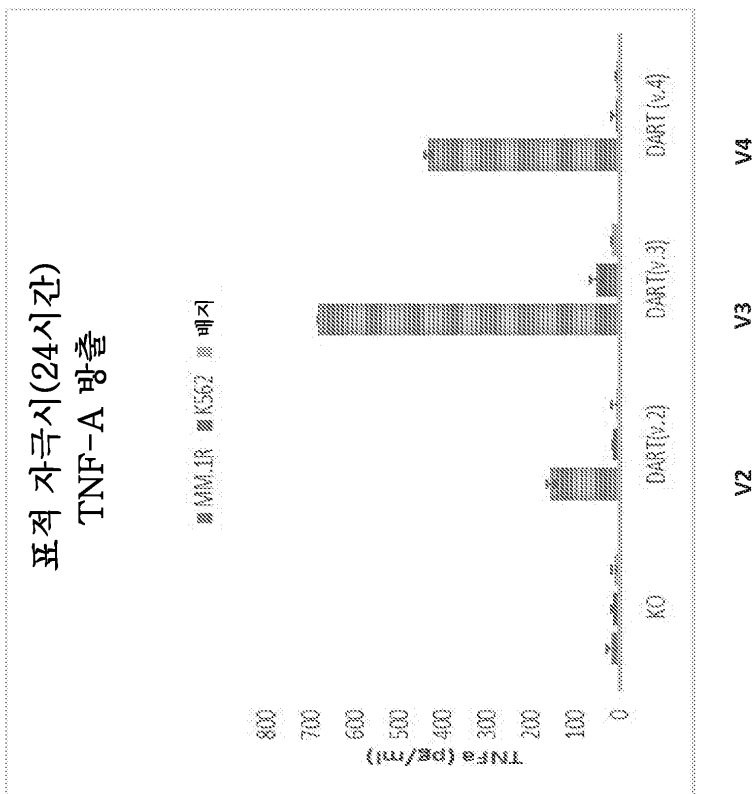
항-CD38BBZ DAR에 의한 RPMI8226 세포의 특이적 사멸



도면33



도면34



도면35a

CD38-A2 DAR (2세대) 아미노산 서열

항-CD38: 중쇄 가변 영역: 서열번호 1

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVASVSNRPTT
YYADSVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDWGGEFTDWGRGTLVT
VSS

항-CD38: 중쇄 불변: 서열번호 2

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHT

항-CD38: 경쇄 가변: 서열번호 3

QSVLTQPPSASGTSQRVTISCSGSSNIGINVFVYQHLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPD
RFSGSKSGNSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVFGSGTKVTVL

항-CD38: 경쇄 불변: 서열번호 4

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS
KQSNKYAASSYLSTPEQWKSQRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

CD28 힌지(짧은): 서열번호 5

KIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKP

CD28: 막관통: 서열번호 6

FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV

4-1BB 신호전달 영역: 서열번호 7

KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

CD28 신호전달 영역: 서열번호 8

RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

CD3계타 신호전달 영역: 서열번호 9

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG
LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

중쇄 리더 서열: 서열번호 10

MEWSWVFLFVSVTTGVHS

경쇄 리더 서열: 서열번호 11

MSVPTQVLGLLLLWLTDCARC

T2A 절단 영역: 서열번호 12

GSGEGRGSLTTCGDVEENPGP

도면35b

항-CD38: 제1 폴리펩타이드 (V2b): 서열번호 13

MEWSWVFLFELSVTGTVHSQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQ
 APGKGLEWVASVSNRPTTYADSVRGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
 REDWGGFEFDWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVGG
 VLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL
 RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG
 LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

항-CD38: 제2 폴리펩타이드 (V2b): 서열번호 14

MSVPTQVLGLLLLWLTDAQCQSVLTQPPSASGTSGQRVTISCSGSSSNIGINFVYWYQHL
 PGTAPKLLIYKNNQRPSGVDRFSGSKSGNSASLAISGLRSEDEADYYCAAADDLSGY
 VFGSGTKVTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSP
 VKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCXVTHEGSTVEKTVAPTECS

항-CD38 2세대 DAR (V2b) 전구체: 서열번호 15

MEWSWVFLFELSVTGTVHSQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQ
 APGKGLEWVASVSNRPTTYADSVRGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
 REDWGGFEFDWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVGG
 VLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL
 RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG
 LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGS
 GEGRGSLLTCGDVEENPGPMSVPTQVLGLLLLWLTDAQCQSVLTQPPSASGTSGQRVTI
 SCSGSSSNIGINFVYWYQHLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVDRFSGSKSGNSASLAISGLRS
 EDEADYYCAAADDLSGYVFGSGTKVTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI
 SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCX
 VTHEGSTVEKTVAPTECS

도면35c

항-CD38: 제1 폴리펩타이드 (V3): 서열번호 16

MEWSWVFLFFLSVTTGVHVSQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQ
 APGKGLEWVASVSNRPTTYADSVRGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
 REDWGGFEFTDWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLLVVG
 VLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRPEEEEEGGCEL
 RVKFSRSADKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

항-CD38: 제2 폴리펩타이드 (V3): 서열번호 17

MSVPTQVLGLLLLWLT DARCQSVLTQPPSASGTSGQRVTISCSGSSNIGINIFYWYQHL
 PGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGNSASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSGY
 VFGSGTKVTVLQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSP
 VKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCXVTHEGSTVEKTVAPTECS

항-CD38 2세대 DAR (V3) 전구체: 서열번호 18

MEWSWVFLFFLSVTTGVHVSQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQ
 APGKGLEWVASVSNRPTTYADSVRGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
 REDWGGFEFTDWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLLVVG
 VLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRPEEEEEGGCEL
 RVKFSRSADKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGS GEGRGSLLTCG
 DVEENPGPMSVPTQVLGLLLLWLT DARCQSVLTQPPSASGTSGQRVTISCSGSSNIGINIF
 VYWYQHLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGNSASLAISGLRSEDEADYYCAA
 WDDSLSGYVFGSGTKVTVLQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA
 AWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCXVTHEGSTVEK
 TVAPTECS

도면35d

긴 힌지 서열: CD8 및 CD28 힌지 서열: 서열번호 19

AKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAPRKIEVMYPPPYLD
 NEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKP

CD3-제타 신호전달 영역 (ITAM 3): 서열번호 20

RVKFSRSADKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

CD8 힌지: 서열번호 21

AKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAPR

항-CD38 키메라 항원 수용체 (CAR) 작제물: 서열번호 22

MEWSWVFLFFLSVTTGVHSDIEQKLISEEDLQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTF
 SDDYMSWIRQAPGKGLEWVASVSNRPTTYADSVRGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA
 AEDTAVYYCAREDWGGFEFTDWGRGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGQAGLTQPPSAS
 GTSQGRVTISCSGSSNIGINIFYWYQHLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGNS
 ASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSGYVFGSGTKVTVLAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQ
 PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLP
 GPSKPFWVLLVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKH
 YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDP
 EMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTY
 DALHMQALPPR

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> SORRENTO THERAPEUTICS, INC.

<120> DIMERIC ANTIGEN RECEPTORS (DAR)

<130> 01223-0015-00PCT

<140> PCT/US19/21681

<141> 2019-03-11

<150> US 62/640,775

<151> 2018-03-09

<160> 24

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD38: heavy chain variable region

<400> 1

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

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

Ala Ser Val Ser Asn Gly Arg Pro Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Asp Trp Gly Gly Glu Phe Thr Asp Trp Gly Arg Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD38: heavy chain constant

<400> 2

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 100 105

<210> 3

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD38: light chain variable

<400> 3

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Ser Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn
 20 25 30

Phe Val Tyr Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Lys Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Asn Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
 65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Ser Gly Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 4

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD38: light chain constant

<400> 4

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
 1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
 20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
 35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
 50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
 65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
 85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100 105

<210> 5

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28 hinge (short)

<400> 5

Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser

1 5 10 15

Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro

 20 25 30

Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

 35 40

<210> 6

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28: transmembrane

<400> 6

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> 7

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 4-1BB signaling region

<400> 7

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

 20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

 35 40

<210> 8

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28 signaling region

<400> 8

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> 9

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3zeta signaling region

<400> 9

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
 50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 100 105 110

<210> 10

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain leader sequence

<400> 10

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 11

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain leader sequence

<400> 11

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1 5 10 15

Asp Ala Arg Cys

20

<210> 12

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T2A cleavage region

<400> 12

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> 13

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD38: first polypeptide (V2b)

<400> 13

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

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

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

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

 Asp Lys Thr His Thr Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD38: second polypeptide (V2b)

<220><221> misc_feature

<222> (218)..(218)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400>

14

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1 5 10 15

Asp Ala Arg Cys Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly

 20 25 30

Thr Ser Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn

 35 40 45

Ile Gly Ile Asn Phe Val Tyr Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Ala

50 55 60

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser

 165 170 175

Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser

 180 185 190

Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 165 170 175
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 180 185 190
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 210 215 220
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
 245 250 255
 Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His
 260 265 270
 Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val
 275 280 285
 Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
 290 295 300
 Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
 305 310 315 320
 Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
 325 330 335
 Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
 340 345 350
 Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
 355 360 365
 Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
 370 375 380
 Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly

385 390 395 400
 Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
 405 410 415
 Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
 420 425 430
 Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
 435 440 445
 Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
 450 455 460
 Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp
 465 470 475 480
 Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly
 485 490 495
 Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala Arg Cys Gln Ser Val Leu Thr
 500 505 510
 Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Ser Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser
 515 520 525
 Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn Phe Val Tyr Trp Tyr
 530 535 540
 Gln His Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Asn Asn
 545 550 555 560
 Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
 565 570 575
 Asn Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp Glu Ala
 580 585 590
 Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val Phe
 595 600 605
 Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro
 610 615 620
 Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys
 625 630 635 640

Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr
645 650 655

Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr
660 665 670

Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr
675 680 685

Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys
690 695 700

Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr
705 710 715 720

Glu Cys Ser

<210> 16
<211> 399
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Anti-CD38: first polypeptide (V3)
<400> 16

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Asp Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Val Ser Asn Gly Arg Pro Thr Thr Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Asp Trp Gly Gly Glu Phe Thr Asp Trp Gly
 115 120 125
 Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 130 135 140
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 165 170 175
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 180 185 190
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 210 215 220
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
 245 250 255
 Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His
 260 265 270
 Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val
 275 280 285
 Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
 290 295 300
 Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
 305 310 315 320
 Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
 325 330 335
 Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
 340 345 350
 Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Lys Gly Glu Arg Arg

Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile
 145 150 155 160

Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser
 165 170 175

Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser
 180 185 190

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

Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser
 210 215 220

Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 225 230 235

<210> 18

<

211> 656

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD38 2nd gen DAR (V3) precursor

<220><221> misc_feature

<222> (638)..(638)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 18

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asp Asp Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Val Ser Asn Gly Arg Pro Thr Thr Tyr Tyr Ala
 65 70 75 80

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

Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
 340 345 350
 Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Lys Gly Glu Arg Arg
 355 360 365
 Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
 370 375 380
 Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly
 385 390 395 400
 Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu
 405 410 415
 Asn Pro Gly Pro Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu
 420 425 430
 Leu Trp Leu Thr Asp Ala Arg Cys Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro
 435 440 445
 Ser Ala Ser Gly Thr Ser Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly
 450 455 460
 Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn Phe Val Tyr Trp Tyr Gln His Leu
 465 470 475 480
 Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Asn Asn Gln Arg Pro
 485 490 495
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Ser Ala
 500 505 510
 Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr
 515 520 525
 Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Ser Gly
 530 535 540
 Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr
 545 550 555 560
 Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu
 565 570 575
 Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp

580 585 590
 Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro
 595 600 605

Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu

610 615 620
 Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr
 625 630 635 640

His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 645 650 655

<210> 19

<211> 88

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Long hinge sequence: CD8 and CD28 hinge sequences

<400> 19

Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro

1 5 10 15
 Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro

20 25 30
 Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Pro Arg

35 40 45
 Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser

50 55 60
 Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro

65 70 75 80
 Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

85

<210> 20

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3-zeta signaling region (ITAM 3)

<400> 20
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
 1 5 10 15
 Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
 20 25 30

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 35 40 45

<210> 21

<211> 48

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 hinge

<400> 21

Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
 1 5 10 15
 Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
 20 25 30

Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Pro Arg
 35 40 45

<210> 22

<211> 541

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD38 chimeric antigen receptor (CAR) construct

<400> 22

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Asp Ile Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln
 20 25 30

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser
 35 40 45

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

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 305 310 315 320

Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser
 325 330 335

Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro
 340 345 350

Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly
 355 360 365

Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile
 370 375 380

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met
 385 390 395 400

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro
 405 410 415

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe
 420 425 430

Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 435 440 445

Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 450 455 460

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg
 465 470 475 480

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
 485 490 495

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
 500 505 510

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
 515 520 525

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 530 535 540

<210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 15 amino acid linker

<400> 23

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

1 5 10 15

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myc tag

<400> 24

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

1 5 10