(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0107235
(43) 공개일자 2023년07월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 31/506* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01) *C07K 16/24* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/39541 (2013.01)
A61K 31/506 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7015673
(22) 출원일자(국제) 2021년11월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년05월09일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/080888
(87) 국제공개번호 WO 2022/101120
국제공개일자 2022년05월19일
(30) 우선권주장
20206567.8 2020년11월10일
유럽특허청(EPO)(EP)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
에프. 호프만-라 로슈 아게
스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124
(72) 발명자
헤겔 헬레네 세실
스위스 8952 슐리렌 바기스트라쎄 10 로슈 글리카트 아게
클라인 크리스티안
스위스 8952 슐리렌 바기스트라쎄 10 로슈 글리카트 아게
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

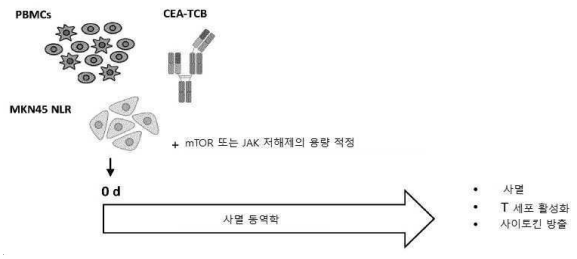
전체 청구항 수 : 총 56 항

(54) 발명의 명칭 **T 세포 관여제 관련 부정적인 효과의 예방 또는 완화**

(57) 요 약

본원 발명은 T 세포 관여제에 관련된 부정적인 효과, 예컨대 사이토킨 방출 증후군의 예방 또는 완화에 관한 것이다. 구체적으로, 본원 발명은 JAK 및/또는 mTOR의 저해제를 이용한, 이런 부작용의 예방 또는 완화에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/519 (2013.01)
A61K 39/39558 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 35/02 (2018.01)
C07K 16/241 (2013.01)
C07K 16/2866 (2013.01)
C07K 16/2887 (2013.01)
A61K 2300/00 (2023.05)

(72) 발명자
레클레르크 가브리엘
스위스 8952 슐리렌 바기스트라쎄 10 로슈 글리카트 아게
토소 알베르토
스위스 4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124 에프. 호프만-라 로슈 아게
짐머만 티나
스위스 4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124 에프. 호프만-라 로슈 아게

(30) 우선권주장
21155823.4 2021년02월08일
유럽특허청(EPO)(EP)
21172623.7 2021년05월07일
유럽특허청(EPO)(EP)
21187472.2 2021년07월23일
유럽특허청(EPO)(EP)

명 세 서

청구범위

청구항 1

개체에서 질환의 치료에 이용하기 위한 T 세포 관여제로서, 여기서 상기 치료는

(a) 개체에게 T 세포 관여제의 투여, 그리고

(b) 개체에게 야누스 키나아제(JAK) 및/또는 라파마이신의 포유류 표적(mTOR) 신호전달의 저해제의 투여를 포함하는, T 세포 관여제.

청구항 2

개체에서 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 T 세포 관여제의 용도로서, 여기서 상기 치료는

(a) 개체에게 T 세포 관여제의 투여, 그리고

(b) 개체에게 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여를 포함하는, 용도.

청구항 3

개체에서 질환의 치료를 위한 방법으로서, 여기서 상기 방법은

(a) 개체에게 T 세포 관여제의 투여, 그리고

(b) 개체에게 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여를 포함하는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 예방 또는 완화를 위한 것인, T 세포 관여제, 용도 또는 방법.

청구항 5

개체에게 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 예방 또는 완화에 이용하기 위한 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제.

청구항 6

T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 예방 또는 완화를 위한 약제의 제조에서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 용도.

청구항 7

개체에게 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여를 포함하는, 개체에게 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과를 예방하거나 또는 완화하기 위한 방법.

청구항 8

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 임의적으로 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스로 구성된 군에서 선택되는 mTOR 저해제인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 9

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 JAK 저해제, 임의적으로 JAK1 및/또는 JAK2 저해제, 임의적으로

룩소리티닙, 바리시티닙, 토파시티닙 또는 페드라티닙인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 10

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제(이의 투여)는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 저해를 유발하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 11

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제(이의 투여)는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 원하는 효과의 저해를 유발하지 않는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 12

제10항 또는 제11항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 저해는 완전한 저해, 또는 임상적으로 의미 있는 및/또는 통계학적으로 유의한 저해인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 13

제4항 내지 제12항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 부정적인 효과는

(i) 사이토킨 방출 증후군(CRS);

(ii) 열병, 저혈압 및/또는 저산소증; 및/또는

(iii) 하나 이상의 사이토킨, 특히 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α, GM-CSF, MCP-1 및 IL-1β로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨의 상승된 혈청 수준인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 14

제4항 내지 제13항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 부정적인 효과(개체에서)의 (임상적) 현성 시에 이루어지는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 15

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는

(i) T 세포 관여제의 투여 전, 투여와 동시에, 또는 투여 후;

(ii) 간헐적으로 또는 연속적으로; 및/또는

(iii) 경구 또는 비경구, 특히 정맥내인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 16

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 일차 투여와 연관되고, 그리고 임의적으로 T 세포 관여제의 일차 투여 전, 투여와 동시에 또는 투여 후인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 17

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 관여제의 투여는

(i) 유효 용량에서;

(ii) 비경구, 특히 정맥내; 및/또는

(iii) 개체에게 T 세포 관여제의 일차 투여인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 18

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 관여제는 T 세포 이중특이적 항체 또는 CAR-T 세포인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 19

제18항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는 CD3 및 표적 세포 항원에 결합하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 20

제18항 또는 제19항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는 CD3에 결합하는 항원 결합 모이어티 및 표적 세포 항원에 결합하는 항원 결합 모이어티를 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 21

제19항 또는 제20항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 표적 세포 항원은 암배아 항원(CEA)인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 22

제21항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는

(i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 4의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티; 그리고

(ii) CEA에 결합하고, 서열 번호: 12의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 13의 HCDR2 및 서열 번호: 14의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 15의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 16의 LCDR2 및 서열 번호: 17의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 23

제21항 또는 제22항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는 CEA에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티 및/또는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는

(i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 4의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의

LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나가 교환되는 교차 Fab 분자이고;

(ii) CEA에 결합하고, 서열 번호: 12의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 13의 HCDR2 및 서열 번호: 14의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 15의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 16의 LCDR2 및 서열 번호: 17의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자, 특히 전통적인 Fab 분자이고;

(iii) 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하고,

여기서 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 세 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합되는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 25

제21항 내지 제24항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하고, 및/또는 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 18의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 19의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함하고, 및/또는 상기 Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 27

제18항 내지 제26항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는 시비사타맙인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 28

제19항 또는 제20항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 표적 세포 항원은 CD20인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 29

제28항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는

(i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 4의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티; 그리고

(ii) CD20에 결합하고, 서열 번호: 24의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 25의 HCDR2 및 서열 번호: 26의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 27의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 28의 LCDR2 및 서열 번호: 29의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 30

제28항 또는 제29항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는 CD20에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티 및/또는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 31

제28항 내지 제30항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는

(i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 4의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나가 교환되는 교차 Fab 분자이고;

(ii) CD20에 결합하고, 서열 번호: 24의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 25의 HCDR2 및 서열 번호: 26의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 27의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 28의 LCDR2 및 서열 번호: 29의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자, 특히 전통적인 Fab 분자이고;

(iii) 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하고,

여기서 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 세 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합되는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 32

제28항 내지 제31항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하고, 및/또는 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 30의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 31의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 33

제28항 내지 제32항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고, 그리고 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산(Kabat에 따른 넘버링)이 리신(K), 아르기닌(R) 또는 히스티딘(H)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 123에서 아미노산(Kabat에 따른 넘버링)이 리신(K), 아르기닌(R) 또는 히스티딘(H)에 의해 독립적으로 치환되며, 그리고 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산(Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산(E) 또는 아스파르트산(D)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 213에서 아미노산(Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산(E) 또는 아스파르트산(D)에 의해 독립적으로 치환되는 전통적인 Fab 분자인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 34

제30항 내지 제33항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함하고, 및/또는 상기 Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 35

제18항 내지 제20항, 그리고 제28항 내지 제34항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는 글로피타맵인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 36

제19항 또는 제20항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 표적 세포 항원은 HLA-A2/MAGE-A4인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 37

제36항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는

(i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 37의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 38의 HCDR2 및 서열 번호: 39의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 40의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 41의 LCDR2 및 서열 번호: 42의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티; 그리고

(ii) HLA-A2/MAGE-A4에 결합하고, 서열 번호: 45의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 46의 HCDR2 및 서열 번호: 47의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 48의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 49의 LCDR2 및 서열 번호: 50의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 38

제36항 또는 제37항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는 HLA-A2/MAGE-A4에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티 및/또는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 39

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는

(i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 37의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 38의 HCDR2 및 서열 번호: 39의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 40의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 41의 LCDR2 및 서열 번호: 42의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나가 교환되는 교차 Fab 분자이고;

(ii) HLA-A2/MAGE-A4에 결합하고, 서열 번호: 45의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 46의 HCDR2 및 서열 번호: 47의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 48의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 49의 LCDR2 및 서열 번호: 50의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자, 특히 전통적인 Fab 분자이고;

(iii) 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하고,

여기서 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 세 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합되는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 40

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 43의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 44의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하고, 및/또는 T 세포 이중특이적

항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 51의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 41

제36항 내지 제40항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고, 그리고 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산(Kabat에 따른 넘버링)이 리신(K), 아르기닌(R) 또는 히스티딘(H)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 123에서 아미노산(Kabat에 따른 넘버링)이 리신(K), 아르기닌(R) 또는 히스티딘(H)에 의해 독립적으로 치환되며, 그리고 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산(Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산(E) 또는 아스파르트산(D)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 213에서 아미노산(Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산(E) 또는 아스파르트산(D)에 의해 독립적으로 치환되는 전통적인 Fab 분자인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 42

제38항 내지 제41항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함하고, 및/또는 상기 Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 43

제19항 또는 제20항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 표적 세포 항원은 CD19인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 44

제43항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는

(i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 61의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 서열 번호: 64의 HCDR1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 65의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티; 그리고

(ii) CD19에 결합하고, 서열 번호: 67의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 68의 HCDR2 및 서열 번호: 69의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 70의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 71의 LCDR2 및 서열 번호: 72의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 45

제43항 또는 제44항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는 CD19에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티 및/또는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 46

제43항 내지 제45항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체는

(i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 61의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 서열 번호: 64의 HCDR1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 65의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의

LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나가 교환되는 교차 Fab 분자이고;

(ii) CD19에 결합하고, 서열 번호: 67의 중쇄 CDR(HCDR) 1, 서열 번호: 68의 HCDR2 및 서열 번호: 69의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 70의 경쇄 CDR(LCDR) 1, 서열 번호: 71의 LCDR2 및 서열 번호: 72의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자, 특히 전통적인 Fab 분자이고;

(iii) 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하고,

여기서 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 세 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합되는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 47

제43항 내지 제46항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 63의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 또는 서열 번호: 66의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하고; 및/또는 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 73의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 74의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 48

제43항 내지 제47항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고, 그리고 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산(Kabat에 따른 넘버링)이 리신(K), 아르기닌(R) 또는 히스티딘(H)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 123에서 아미노산(Kabat에 따른 넘버링)이 리신(K), 아르기닌(R) 또는 히스티딘(H)에 의해 독립적으로 치환되며, 그리고 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산(Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산(E) 또는 아스파르트산(D)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 213에서 아미노산(Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산(E) 또는 아스파르트산(D)에 의해 독립적으로 치환되는 전통적인 Fab 분자인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 49

제45항 내지 제48항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함하고, 및/또는 상기 Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 50

전술한 청구항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 질환(T 세포 관여제에 의해 치료되는)은 암, 특히 T 세포 관여제의 표적 세포 항원을 발현하는 암인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 51

제50항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 암은

(i) 암배아 항원(CEA) 발현 암이거나/이고,

(ii) 결장직장암, 폐암, 췌장암, 유방암 및 위암으로 구성된 군에서 선택되는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 52

제50항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 암은

(i) CD20 발현 암이거나/이고,

(ii) B 세포 암이거나/이고,

(ii) 비호지킨 림프종(NHL), 급성 림프성 백혈병(ALL), 만성 림프성 백혈병(CLL), 미만성 큰 B 세포 림프종(DLBCL), 여포성 림프종(FL), 외투 세포 림프종(MCL) 및 변연대 림프종(MZL)으로 구성된 군에서 선택되는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 53

제50항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 암은 MAGE-A4 발현 암인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 54

제50항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 암은

(i) CD19 발현 암이거나/이고,

(ii) B 세포 암이거나/이고,

(ii) 비호지킨 림프종(NHL), 급성 림프성 백혈병(ALL) 및 만성 림프성 백혈병(CLL)으로 구성된 군에서 선택되는, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 55

제43항 내지 제49항 중 어느 한 항의 T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법으로서, 여기서 질환(T 세포 관여제에 의해 치료되는)은 자가면역 질환, 특히 루푸스, 더욱 특히 전신성 홍반성 루푸스(SLE) 또는 루푸스 신장염(LN)인, T 세포 관여제, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법.

청구항 56

전술된 바와 같은 발명.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본원 발명은 T 세포 관여제에 관련된 부정적인 효과, 예컨대 사이토킨 방출 증후군의 예방 또는 완화에 관한 것이다. 구체적으로, 본원 발명은 JAK 및/또는 mTOR의 저해제를 이용한, 이런 부작용의 예방 또는 완화에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] T 세포 관여제 예컨대 T 세포 이중특이적 항체(TCB) 또는 키메라 항원 수용체(CAR) 발현 T 세포(CAR-T 세포)는 암 면역치료제로서 큰 가능성을 가지고 있다. 하지만, T 세포 관여제를 이용한 치료는 때때로 표적내 종양 내, 표적내 종양 외 세포독성 활성 및 사이토킨 방출에 기인한 안전성 책임과 연관된다. T 세포 관여제에 대해 보고된 가장 흔한 부작용 중에서 한 가지는 사이토킨 방출 증후군(CRS)이다. 이러한 복합적인 임상적 증후군은 열병, 저혈압 및 호흡 결함에 의해 특징화되고 친염증성 사이토킨 예컨대 IL-6, TNF-α, IFN-γ 및 IL-10의 방출과 연관된다 (참조: 예를 들면 Shimabukuro-Vornhagen et al., J Immunother Cancer (2018) 6, 56). 이들 치명적인 독성을 완화하기 위한 접근방식이 매우 요구된다. Src 저해제 다사티닙이 CAR-T 세포 (Weber et al., Blood Advances (2019) 3, 711-7; Mestermann et al., Sci Transl Med (2019) 11, eaau5907)뿐만 아니라 TCB (Leclercq et al., J Immunother Cancer (2020) 8 (Suppl 3): A690 (초록 653))의 부정적인 효과의 예방 또는

완화를 위한 강력한 후보로서 확인되었다. 하지만, 다사티닙은 작용제의 원하는 활성 및 바람직하지 않은 활성 사이의 구별 없이, CAR-T 세포 기능성뿐만 아니라 TCB 유발 T 세포 기능성을 전적으로 차단한다. T 세포 관여제의 치료 효능을 보존하면서 이들의 부정적인 효과를 예방하거나 또는 완화하기 위한 방식이 매우 바람직할 것이다. 개별 사이토킨 예컨대 IL-6 또는 TNF-α의 차단이, TCB 유발 T 세포 활성에 영향을 주지 않으면서 CRS의 예방을 위한 전략으로서 제안되었다 (Li et al., Sci Transl Med 11, eaax8861 (2019)). 항-IL-6 치료 (예를 들면 토실리주맙 이용) 이외에, 글루코코르티코이드 역시 CRS의 관리에 이용된다. 하지만, 일부 환자는 이들 접근방식에 반응하지 않아, CRS 완화를 위한 신규한 접근방식을 개발해야 할 필요성이 있다.

발명의 내용

[0003] 본 발명자들은 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제가 T 세포 관여 요법에 의한 CRS를 완화하는 데 이용될 수 있다는 것을 발견하였다. mTOR 저해제 예컨대 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스, 그리고 JAK 저해제 예컨대 룩소리티닙은 TCB 매개 표적 세포 사멸을 유지하면서 TCB 유발 사이토킨 방출을 강력하게 예방하는 것으로 밝혀졌다. 이들 결과는 TCB 의존성 사이토킨 방출 및 표적 세포 사멸의 기전이 분리될 수 있다는 증거를 제공하고, 그리고 mTOR 및/또는 JAK 저해제를, T 세포 관여 요법과 연관된 CRS의 완화를 위해 현재 이용되고 있는 전략, 예컨대 스테로이드 또는 IL-6/IL-6R 차단에 대한 매력적이고 잠재적으로 우수한 대안 또는 보완제로서 암시한다.

[0004] 따라서, 첫 번째 양상에서, 본원 발명은 개체에서 질환의 치료에 이용하기 위한 T 세포 관여제를 제공하는데, 여기서 상기 치료는

[0005] (a) 개체에게 T 세포 관여제의 투여, 그리고

[0006] (b) 개체에게 야누스 키나아제(JAK) 및/또는 라파마이신의 포유류 표적 (mTOR) 신호전달의 저해제의 투여를 포함한다.

[0007] 본원 발명은 개체에서 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 T 세포 관여제의 용도를 더욱 제공하는데, 여기서 상기 치료는

[0008] (a) 개체에게 T 세포 관여제의 투여, 그리고

[0009] (b) 개체에게 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여를 포함한다.

[0010] 본원 발명은 또한, 개체에서 질환의 치료를 위한 방법을 제공하는데, 여기서 상기 방법은

[0011] (a) 개체에게 T 세포 관여제의 투여, 그리고

[0012] (b) 개체에게 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여를 포함한다.

[0013] 임의의 상기 양상에 따라서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 예방 또는 완화를 위한 것일 수 있다.

[0014] 다른 양상에서, 본원 발명은 개체에게 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 예방 또는 완화에 이용하기 위한 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제를 제공한다.

[0015] 본원 발명은 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 예방 또는 완화를 위한 약제의 제조에서 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 용도를 더욱 제공한다.

[0016] 본원 발명은 또한, 개체에게 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여를 포함하는, 개체에게 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과를 예방하거나 또는 완화하기 위한 방법을 제공한다.

[0017] 상기에서 및 본원에서 설명된 용도를 위한 T 세포 관여제, 용도를 위한 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제, 용도 또는 방법은 (문맥에서 별도로 표시되지 않는 한) 하기에서 설명된 임의의 특질을 단독으로 또는 조합으로 통합할 수 있다.

[0018] 본원에서 용어는 본원에서 별도로 규정되지 않는 한 당해 분야에서 일반적으로 이용된 바와 같이 이용된다.

[0019] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 mTOR 저해제이다. 더 특정한 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 mTOR 키나아제 저해제, 특히 소형 분자 mTOR 키나아제 저해제이다.

[0020] "mTOR"은 라파마이신의 포유류 표적 (FK506 결합 단백질 12-라파마이신 복합체 관련 단백질 1 (FRAP1)로서 또한

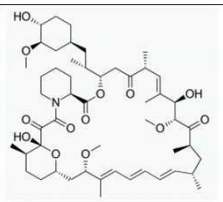
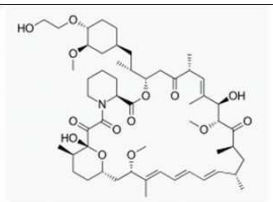
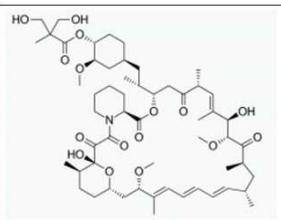
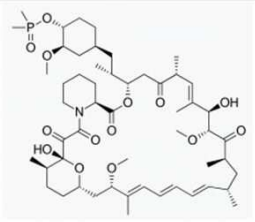
알려져 있음)을 의미하고, 그리고 포스파티딜이노시톨-3 키나아제(PI3K) 관련 키나아제의 패밀리에 속하는 세린/트레오닌 특이적 단백질 키나아제이다. 이것은 상이한 세포 과정을 조절하는 2개의 구별되는 단백질 복합체, mTOR 복합체 1 (TORC1) 및 mTOR 복합체 2 (TORC2)의 코어 성분으로서 역할을 한다. 인간 mTOR은 UniProt 엔트리 P42345 (버전 218)에서 설명된다. mTOR 저해제는 mTOR을 저해하는 화합물이다. mTOR의 가장 확립된 저해제는 이른바 라파로그인데, 이들은 라파마이신의 유도체이다. 라파로그는 시로리무스, 템시로리무스, 에베로리무스 및 리다포로리무스를 포함한다. 2세대 mTOR 저해제는 mTOR의 촉매 부위에서 ATP와 경쟁하도록 설계된 ATP-경쟁 mTOR 키나아제 저해제이다.

[0021] 본원 발명에서 유용할지도 모르는 예시적인 mTOR 저해제는 아래의 **표 1**에서 제공된다.

[0022] **표 1.** mTOR 저해제.

표 1

[0023]

INN	구조
시로리무스	
에베로리무스	
템시로리무스	
리다포로리무스	

[0024] 일부 양상에서, mTOR 저해제는 라파마이신의 유도체 (라파로그로서 또한 알려져 있음)이다.

[0025] 일부 양상에서, mTOR 저해제는 시로리무스, 템시로리무스, 에베로리무스 및 리다포로리무스로 구성된 군, 특히 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스로 구성된 군에서 선택된다.

[0026] 특정한 양상에서, mTOR 저해제는 시로리무스이다. 더 특정한 양상에서, mTOR 저해제는 템시로리무스이다. 또 다른 특정한 양상에서, mTOR 저해제는 에베로리무스이다.

[0027] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 JAK 저해제이다. 더 특정한 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 JAK 키나아제 저해제, 특히 소형 분자 JAK 키나아제 저해제이다.

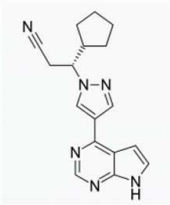
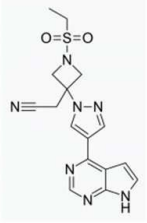
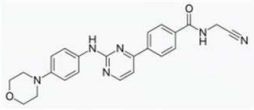
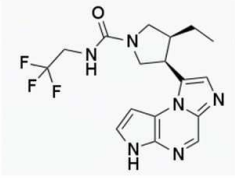
[0028] "JAK"는 야누스 키나아제를 의미하고, 그리고 JAK/STAT 경로를 통해 사이토킨 매개 신호를 전달하는 세포내, 비-수용체 티로신 키나아제의 패밀리를 지칭한다. JAK는 2개의 거의 동일한 인산염 이전 도메인을 보유하는데, 하나는 키나아제 활성을 나타내고, 그리고 다른 하나는 첫 번째 것의 키나아제 활성을 부정적으로 조절한다. 4개

의 JAK 패밀리 구성원은 JAK1, JAK2, JAK3 및 TYK2 (티로신 키나아제 2)이다. 본원의 특정한 양상에서, JAK는 JAK1 및/또는 JAK2 (JAK1/2)이다. 인간 JAK1 및 JAK2는 UniProt 엔트리 P23458 (버전 221) 및 P60674 (버전 224)에서 각각 설명된다. JAK 저해제 (때때로 jakinib로서 또한 지칭됨)는 JAK 패밀리의 효소 (JAK1, JAK2, JAK3, TYK2) 중에서 하나 이상의 활성을 저해하고, 그것에 의하여 JAK/STAT 신호전달 경로를 간섭하는 화합물이다.

[0029] 본원 발명에서 유용할지도 모르는 예시적인 JAK 저해제는 아래의 **표 2**에서 제공된다.

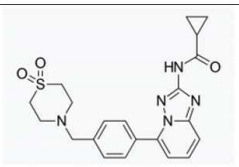
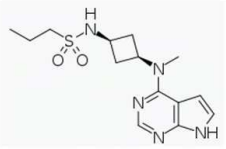
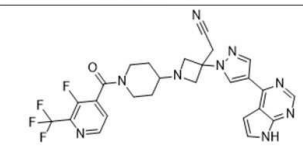
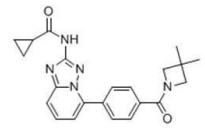
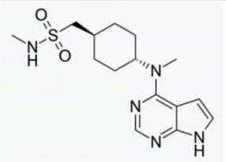
[0030] **표 2.** JAK 저해제.

표 2

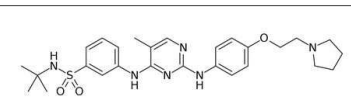
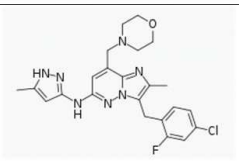
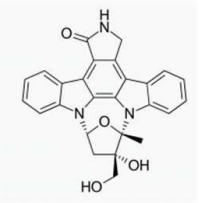
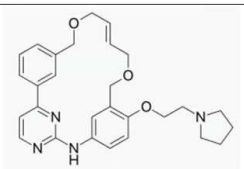
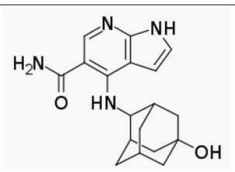
INN	주된 특이성	구조
룩소리티닙	JAK1, JAK2	
바리시티닙	JAK1, JAK2	
모멜로티닙	JAK1, JAK2	
유파다시티닙	JAK1	

[0031]

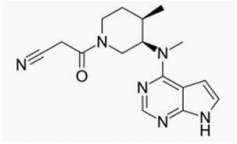
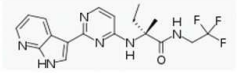
[0032]

필고티닙	JAK1	
아브로시티닙	JAK1	
이타시티닙	JAK1	
솔시티닙	JAK1	
오클라시티닙	JAK1	

[0033]

페드라티닙	JAK2	
간도티닙	JAK2	
레스타우르티닙	JAK2	
파크리티닙	JAK2	
페피시티닙	범-JAK (JAK3)	

[0034]

토파시티닙	범-JAK (JAK3)	
데세르노티닙	JAK3	

[0035] 일부 양상에서, JAK 저해제는 JAK1 및/또는 JAK2 (JAK1/2) 저해제이다. 일부 양상에서, JAK 저해제는 룩소리티닙, 바리시티닙, 모멜로티닙, 유파다시티닙, 필고티닙, 아브로시티닙, 이타시티닙, 솔시티닙, 오클라시티닙, 페드라티닙, 간도티닙, 레스타우르티닙 및 파크리티닙으로 구성된 군에서 선택된다.

[0036] 특정한 양상에서, JAK 저해제는 JAK1 및 JAK2 저해제이다. 특정한 이런 양상에서, JAK 저해제는 룩소리티닙, 바리시티닙 및 모멜로티닙으로 구성된 군에서 선택된다.

[0037] 일부 양상에서, JAK 저해제는 JAK1 저해제이다. 특정한 이런 양상에서, JAK 저해제는 유파다시티닙, 필고티닙, 아브로시티닙, 이타시티닙, 솔시티닙 및 오클라시티닙으로 구성된 군에서 선택된다.

[0038] 일부 양상에서, JAK 저해제는 JAK2 저해제이다. 특정한 이런 양상에서, JAK 저해제는 페드라티닙, 간도티닙, 레스타우르티닙 및 파크리티닙으로 구성된 군에서 선택된다. 특정한 이런 양상에서, JAK 저해제는 페드라티닙이다.

[0039] 일부 양상에서, JAK 저해제는 범-JAK 저해제이다. 특정한 이런 양상에서, JAK 저해제는 토파시티닙 또는 페피시티닙, 특히 토파시티닙이다.

[0040] 특정한 양상에서, JAK 저해제는 룩소리티닙이다. 더 특정한 양상에서, JAK 저해제는 바리시티닙이다. 일부 양상에서, JAK 저해제는 토파시티닙이다. 일부 양상에서, JAK 저해제는 페드라티닙이다.

[0041] 특정한 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 시로리무스, 템시로리무스, 에베로리무스 및 룩소리티닙으로 구성된 군에서 선택된다. 더 특정한 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 시로리무스, 템시로리무스, 에베로리무스, 룩소리티닙 및 바리시티닙으로 구성된 군에서 선택된다.

[0042] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 활성의 저해를 유발한다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 다른 활성의 저해를 유발하지 않는다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 첫 번째 활성의 저해를 유발하지만, T 세포 관여제의 두 번째 활성의 저해를 유발하지 않는다. 이들 양상 중 일부에서, 상기 저해는 완전한 저해이다.

[0043] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 첫 번째 활성의 저해 및 T 세포 관여제의 두 번째 활성의 저해를 유발하는데, 여기서 첫 번째 활성의 상기 저해는 두 번째 활성의 상기 저해보다 강하다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 첫 번째 활성의 저해 및 T 세포 관여제의 두 번째 활성의 저해를 유발하는데, 여기서 첫 번째 활성의 상기 저해는 완전한 저해이고 두 번째 활성의 상기 저해는 부분적인 저해이다.

[0044] T 세포 관여제의 "활성"은 T 세포 관여제에 의해 유발된, 개체의 신체에서 반응을 지칭한다. 이런 활성은 T 세포, 특히 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포의 세포 반응(들), 예컨대 증식, 분화, 사이토킨 분비, 세포독성 효과기 분자 방출, 세포독성 활성 및 활성화 마커의 발현, 및/또는 표적 세포, 특히 T 세포 관여제의 표적 세포 항원을 발현하는 표적 세포 (예를 들면 종양 세포), 예컨대 표적 세포의 용해에 대한 효과를 포함할 수 있다.

[0045] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 면역 세포, 특히 T 세포에 의한 사이토킨 분비 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발한다. 일부 양상에서, 상기 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α, GM-CSF, MCP-1 및 IL-1β로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨이다. 면역 세포는 다양한 면역 세포 유형, 예컨대 T 세포, 대식세포, 단핵구, NK 세포 등을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 상기 T 세포는 CD8+ T 세포 또는 CD4+ 세포이다. 일부 양상에서, 상기 저해는 완전한 저해이다.

[0046] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포의 활성화 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하지 않는다. 일부 양상에서, 상기 저해는 완전한 저해이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포의 활성화 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하고, 여

기서 상기 저해는 부분적인 저해이다.

[0047] 본원에서 이용된 바와 같이, "T 세포의 활성화" 또는 "T 세포 활성화"는 증식, 분화, 세포독성 효과기 분자 방출, 세포독성 활성, 그리고 활성화 마커의 발현에서 선택되는, T 림프구, 특히 CD4+ 또는 CD8+ T 세포의 한 가지 이상의 세포 반응을 지칭한다. T 세포 활성화를 계측하기 위한 적합한 검정은 당해 분야에서 공지되고 본원에서 설명된다. 특정한 양상에서, T 세포 활성화는 활성화 마커의 발현, 특히 CD25 및/또는 CD69의 발현 (임의적으로 유세포분석에 의해 계측 시)이다. 특정한 양상에서, T 세포 활성화는 예를 들면 유세포분석에 의해, T 세포 상에서 CD25 및/또는 CD69의 발현을 계측함으로써 결정된다.

[0048] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포의 세포독성 활성 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하지 않는다. 일부 양상에서, 상기 저해는 완전한 저해이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포의 세포독성 활성 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하고, 여기서 상기 저해는 부분적인 저해이다.

[0049] T 세포의 "세포독성 활성"은 T 림프구, 특히 CD4+ 또는 CD8+ T 세포에 의한 표적 세포의 용해 (다시 말하면 사멸)의 유도를 지칭한다. 세포독성 활성은 전형적으로, T 림프구로부터 세포독성 효과기 분자 예컨대 그랜자임 B 및/또는 퍼포린의 방출과 연관된, T 림프구의 탈과립을 수반한다.

[0050] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포에 의한 사이토킨 분비 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하지만, T 세포의 활성화 및/또는 세포독성 활성 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하지 않는다. 이들 양상 중 일부에서, 상기 저해는 완전한 저해이다.

[0051] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포에 의한 사이토킨 분비 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해 및 T 세포의 활성화 및/또는 세포독성 활성 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하는데, 여기서 사이토킨 분비의 상기 저해는 활성화 및/또는 세포독성 활성의 상기 저해보다 강하다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포에 의한 사이토킨 분비 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해 및 T 세포의 활성화 및/또는 세포독성 활성 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하는데, 여기서 사이토킨 분비의 상기 저해는 완전한 저해이고 활성화 및/또는 세포독성 활성의 상기 저해는 부분적인 저해이다.

[0052] 본원에서 저해는 부분적인 저해 또는 완전한 저해일 수 있다. 완전한 저해는 부분적인 저해보다 강한 저해이다. 일부 양상에서 부분적인 저해는 30% 이내, 40% 이내, 50% 이내, 60% 이내, 또는 70% 이내이다. 일부 양상에서, 부분적인 저해는 30% 이내 저해이다. 일부 양상에서, 부분적인 저해는 40% 이내 저해이다. 일부 양상에서, 부분적인 저해는 50% 이내 저해이다. 일부 양상에서, 부분적인 저해는 60% 이내 저해이다. 일부 양상에서, 부분적인 저해는 70% 이내 저해이다. 일부 양상에서 완전한 저해는 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 100% 저해이다. 일부 양상에서, 완전한 저해는 적어도 80% 저해이다. 일부 양상에서, 완전한 저해는 적어도 90% 저해이다. 일부 양상에서, 완전한 저해는 100% 저해이다. 일부 양상에서, 부분적인 저해는 50% 이내 저해이고, 그리고 완전한 저해는 적어도 80% 저해이다. 일부 양상에서, 완전한 저해는 임상적으로 의미 있고/있거나 통계학적으로 유의하고, 및/또는 부분적인 저해는 임상적으로 의미 있고/있거나 통계학적으로 유의하지 않다.

[0053] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 개체에서 하나 이상의 사이토킨의 혈청 수준의 감소를 유발한다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 개체에서 면역 세포, 특히 T 세포에 의한 하나 이상의 사이토킨의 분비의 감소를 야기한다. 일부 양상에서, 상기 하나 이상의 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α, GM-CSF, MCP-1 및 IL-1β로 구성된 군에서 선택된다. 면역 세포는 다양한 면역 세포 유형, 예컨대 T 세포, 대식세포, 단핵구, NK 세포 등을 포함할 수 있다.

[0054] 일부 양상에서, 상기 감소는 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제가 (개체에게) 투여되지 않은 후, 소정의 양의 시간 동안 지속된다. 일부 양상에서, 상기 양의 시간은 약 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 20 시간, 24 시간, 36 시간, 48 시간, 72 시간, 또는 96 시간이다. 일부 양상에서, 상기 감소는 T 세포 관여제의 후속 투여 후 지속된다. 특히, 상기 감소는 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여가 중단되거나 / JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 어떤 추가 투여도 이루어지지 않는 이후에도 지속된다. 혈청 수준/사이토킨 분비의 상기 감소는 특히, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여가 없는 개체 (동일한 개체 포함)에서 혈청 수준/사이토킨 분비와 비교된다 (다시 말하면 이런 사례에서 혈청 수준/사이토킨 분비는 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여가 없는/이것의 투여 전 혈청 수준/사이토킨 분비와 비교하여 감소된다). 혈청 수준/사이토킨 분비의 상기 감소는 특히, T 세포 관여제의 투여 (특히 일차 투

여)가 있지만 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여가 없는 개체 (동일한 개체 포함)에서 혈청 수준/사이토킨 분비와 비교된다 (다시 말하면 이런 사례에서 혈청 수준/사이토킨 분비는 T 세포 관여제의 투여가 있는/이것의 투여 후, 그러나 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여가 없는/이것의 투여 전 혈청 수준/사이토킨 분비와 비교하여 감소된다). 상기 감소 없이, 혈청 수준/사이토킨 분비는 특히, T 세포 관여제 (이것의 투여)와 관련하여 상승되거나/증가될 수 있다. 일부 양상에서, 상기 감소는 임상적으로 의미 있고/있거나 통계학적으로 유의하다. 일부 양상에서, 상기 감소는 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 또는 적어도 70%이다. 일부 양상에서, 상기 감소는 적어도 30%이다. 일부 양상에서, 상기 감소는 적어도 40%이다. 일부 양상에서, 상기 감소는 적어도 50%이다. 일부 양상에서, 상기 감소는 적어도 60%이다. 일부 양상에서, 상기 감소는 적어도 70%이다.

[0055] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 저해를 유발한다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 원하는 효과의 저해를 유발하지 않는다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 저해를 유발하지만, T 세포 관여제의 투여에 관련된 원하는 효과의 저해를 유발하지 않는다. 이들 양상 중 일부에서, 상기 저해는 완전한 저해이다. 이들 양상 중 일부에서, 상기 저해는 임상적으로 의미 있고/있거나 통계학적으로 유의하다.

[0056] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 저해 및 T 세포 관여제의 투여에 관련된 원하는 효과의 저해를 유발하는데, 여기서 부정적인 효과의 상기 저해는 원하는 효과의 상기 저해보다 강하다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 저해 및 T 세포 관여제의 투여에 관련된 원하는 효과의 저해를 유발하는데, 여기서 부정적인 효과의 상기 저해는 완전한 저해이고 유익한 효과의 상기 저해는 부분적인 저해이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 (이의 투여)는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 저해 및 T 세포 관여제의 투여에 관련된 원하는 효과의 저해를 유발하는데, 여기서 부정적인 효과의 상기 저해는 임상적으로 의미 있고/있거나 통계학적으로 유의한 저해이고, 그리고 유익한 효과의 상기 저해는 임상적으로 의미 있고/있거나 통계학적으로 유의한 저해가 아니다.

[0057] "원하는 효과"는 본원에서 특히 T 세포 관여제를 이용한 개체의 치료에서 약제로부터 발생하는 유익한 원하는 효과, 다시 말하면 치료 또는 예방 효과, 예컨대 예를 들면 종양 세포의 사멸, 종양 성장의 감소 또는 지연, 종양 용적의 감소, 종양 전이의 감소 또는 예방, 진행 없는 또는 전체 생존의 증가, 질환 증상의 완화, 기타 등등이다.

[0058] 때때로 또한 "부작용" 또는 "부작용" (특히 임상 연구에서)으로서 표시되는 "부정적인 효과"는 본원에서 특히 T 세포 관여제를 이용한 개체의 치료에서 약제로부터 발생하는 유해하고 바람직하지 않은 효과이다.

[0059] 본원 발명에 따라서, 부정적인 효과는 T 세포 관여제의 투여에 관련된다. 일부 양상에서, 부정적인 효과는 T 세포 관여제의 일차 투여에 관련된다. 일부 양상에서, 부정적인 효과는 T 세포 관여제의 일차 투여 시에 발생한다. 일부 양상에서, 부정적인 효과는 T 세포 관여제의 일차 투여 시에 주로 또는 오로지 발생한다. 일부 양상에서, 부정적인 효과는 T 세포 관여제의 투여, 특히 일차 투여의 12 시간, 24 시간, 36 시간, 48 시간, 72 시간 또는 96 시간 이내에 발생한다. 특히 T 세포 관여제의 단일 투여만 이루어지는 (T 세포 관여제를 이용한 치료의 경과에서) 일부 양상에서, 부정적인 효과는 T 세포 관여제의 투여의 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 10 일, 14 일 또는 21 일 이내에 발생한다.

[0060] 일부 양상에서, 상기 부정적인 효과는 사이토킨 방출 증후군 (CRS)이다.

[0061] "사이토킨 방출 증후군" ("CRS"로서 약칭됨)은 불리한 증상을 야기하는, 치료제 (예를 들면 T 세포 관여제)의 투여 동안 또는 직후에 (예를 들면 1일 이내에) 개체의 혈액에서 사이토킨, 예컨대 종양 괴사 인자 알파 (TNF-α), 인터페론 감마 (IFN-γ), 인터류킨-6 (IL-6), 인터류킨-10 (IL-10) 등의 수준에서 증가를 지칭한다 CRS는 치료제에 대한 유해 반응이고 치료제의 투여와 적시적으로 관련된다. 이것은 전형적으로, 치료제의 투여 동안 또는 직후에 발생한다, 다시 말하면 전형적으로 투여 (전형적으로 주입) 후 24 시간 이내에, 지배적으로 일차 투여에서 발생한다. 일부 경우에, 예를 들면 CAR-T 세포의 투여 후, CRS는 또한, CAR-T 세포의 확대 시에 단지 이후에만, 예를 들면 투여 후 수일 째에 발생할 수 있다. 발생률과 심각도는 후속 투여 시에 전형적으로 감소한다. 증상은 증상성 불편 내지 치명적인 사건의 범위 안에 있을 수 있고, 그리고 열병, 오한, 현기증, 고혈압, 저혈압, 저산소증, 호흡곤란, 안절부절, 발한, 홍조, 피부 발진, 빈맥, 빈호흡, 두통, 종양 통증, 메스꺼움, 구토 및/또는 장기 부전을 포함할 수 있다. CRS는 Lee et al., Blood (2014) 124: 188-195 또는 Lee et al.,

Biol Blood Marrow Transplant (2019) 25(4): 625-638 (각각 본원에서 온전히 참조로서 편입됨)에 의해 확립된 수정된 사이토킨 방출 증후군 등급 분류 시스템에 따라서 등급 분류될 수 있다. CRS에 관한 검토를 위해, 예를 들면 Shimabukuro-Vornhagen et al., Journal for ImmunoTherapy of Cancer (2018) 6:56 (본원에서 온전히 참조로서 편입됨)을 참조한다.

[0062] 일부 양상에서, 상기 부정적인 효과는 열병, 저혈압 및/또는 저산소증이다.

[0063] 일부 양상에서, 상기 부정적인 효과는 하나 이상의 사이토킨의 상승된 혈청 수준이다. 상기 상승된 혈청 수준은 특히, 건강한 개체에서 혈청 수준 및/또는 T 세포 관여제의 투여가 없는 개체 (동일한 개체 포함)에서 혈청 수준과 비교된다 (다시 말하면 이런 사례에서 혈청 수준은 T 세포 관여제의 투여가 없는 혈청 수준과 비교하여 상승된다). 일부 양상에서, 상기 하나 이상의 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α, GM-CSF, MCP-1 및 IL-1β로 구성된 군에서 선택된다.

[0064] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 부정적인 효과 (개체에서)의 (임상적) 현성 시에 이루어진다. 상기 투여는 예를 들면, 부정적인 효과의 현성 (다시 말하면 부작용, 예컨대 열병의 임상 증상의 발생) 후 약 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 20 시간 또는 24 시간 이내일 수 있다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 부정적인 효과 (개체에서)의 (임상적) 현성에 대한 대응이다.

[0065] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여 이전이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여와 동시발생한다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여 이후이다. JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여가 T 세포 관여제의 투여의 이전 또는 이후인 경우에, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 이런 투여는 각각, 예를 들면, T 세포 관여제의 투여의 이전 또는 이후 약 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 20 시간 또는 24 시간 이내일 수 있다. JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 간헐적 또는 연속적일 수 있다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 경구이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 비경구, 특히 정맥내이다.

[0066] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 활성의 저해를 유발하는 데 충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 다른 활성의 저해를 유발하는 데 불충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 첫 번째 활성의 저해를 유발하는 데 충분하지만, T 세포 관여제의 두 번째 활성의 저해를 유발하는 데 불충분한 용량으로 이루어진다. 이들 양상 중 일부에서, 상기 저해는 완전한 저해이다.

[0067] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 면역 세포, 특히 T 세포에 의한 사이토킨 분비 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하는 데 충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, 상기 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α, GM-CSF, MCP-1 및 IL-1β로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨이다. 면역 세포는 다양한 면역 세포 유형, 예컨대 T 세포, 대식세포, 단핵구, NK 세포 등을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, 상기 T 세포는 CD8+ T 세포 또는 CD4+ 세포이다. 일부 양상에서, 상기 저해는 완전한 저해이다.

[0068] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포의 활성화 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하는 데 불충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, 상기 저해는 완전한 저해이다.

[0069] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포의 세포독성 활성 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하는 데 불충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, 상기 저해는 완전한 저해이다.

[0070] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포에 의한 사이토킨 분비 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하는 데 충분하지만, T 세포의 활성화 및/또는 세포독성 활성 (T 세포 관여제에 의해 유도된)의 저해를 유발하는 데 불충분한 용량으로 이루어진다. 이들 양상 중 일부에서, 상기 저해는 완전한 저해이다.

[0071] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 개체에서 하나 이상의 사이토킨의 혈청 수준의 감소를 유발하는 데 충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 개체에서 면역 세포, 특히 T 세포에 의한 하나 이상의 사이토킨의 분비의 감소를 유발하는 데 충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, 상기 하나 이상의 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α, GM-CSF, MCP-1 및 IL-1β로 구성된 군에서 선택된다. 면역 세포는 다양한 면역 세포 유형, 예컨대 T 세포, 대식세포, 단핵구, NK

세포 등을 포함할 수 있다.

[0072] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 저해를 유발하는 데 충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 원하는 효과의 저해를 유발하는 데 불충분한 용량으로 이루어진다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과의 저해를 유발하는 데 충분하지만, T 세포 관여제의 투여에 관련된 원하는 효과의 저해를 유발하는 데 불충분한 용량으로 이루어진다. 이들 양상 중 일부에서, 상기 저해는 완전한 저해이다. 이들 양상 중 일부에서, 상기 저해는 임상적으로 의미 있고/있거나 통계학적으로 유의하다.

[0073] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 유효 용량에서 이루어진다.

[0074] 작용제, 예를 들면 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 또는 T 세포 관여제의 "효과량" 또는 "유효 용량"은 원하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하는 데 필요한 용량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0075] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제에 이용 가능한 용량 강도를 균등화하는 용량으로 이루어진다. 전형적으로, 여러 용량 강도 (다시 말하면 특정한 양의 활성 성분을 갖는 약형 예컨대 정제 또는 캡슐)가 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 소정의 저해제에 이용 가능하다. JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제를 이런 (상업적으로) 가용한 용량 강도에서 투약하는 것이 가장 편의할 것이다. 예를 들면, 만약 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제가 에베로리무스이면, 이것은 바람직하게는 2.5 mg, 5 mg, 7.5 mg 또는 10 mg의 용량으로 투여될 수 있다 (투여는 바람직하게는 경구 투여이다). 예를 들면, 만약 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제가 시로리무스이면, 이것은 바람직하게는 0.5 mg, 1 mg 또는 2 mg의 용량으로 투여될 수 있다 (투여는 바람직하게는 경구 투여이다). 예를 들면, 만약 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제가 룩소리티닙이면, 이것은 바람직하게는 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg 또는 25 mg의 용량으로 투여될 수 있다 (투여는 바람직하게는 경구 투여이다). 만약 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제가 템시로리무스이면, 이것은 예를 들면 12.5 mg 또는 25 mg의 용량으로 투여될 수 있다 (투여는 바람직하게는 정맥내 투여, 특히 25mg/ml 활성 성분의 용액을 이용한 정맥내 투여이다).

[0076] 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 매일이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 하루 1 회이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 앞서 언급된 바와 같은 용량으로 하루 1 회이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 부정적인 효과가 존속하는 기간 동안 이루어진다 (다시 말하면 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 부정적인 효과의 현성 때부터 부정적인 효과의 감소 또는 소멸 때까지이다). 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 부정적인 효과가 예방되거나 또는 완화된 후 중단된다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 부정적인 효과의 감소 또는 소멸 후 중단된다. 상기 감소는 특히 임상적으로 의미 있고/있거나 통계학적으로 유의하다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회 또는 10회, 특히 T 세포 관여제를 이용한 개체의 치료의 경과에서 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회 또는 10회이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일 또는 10 일 동안이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일 또는 10 일 동안 하루 1 회이다. JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 투여와 일반적으로 연관된다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 일차 투여와 연관된다. 상기 일차 투여는 특히, T 세포 관여제를 이용한 개체의 치료의 경과에서 T 세포 관여제의 일차 투여이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 일차 투여와 일치한다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 일차 투여 이전이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 일차 투여 이후이다. 일부 양상에서, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여는 T 세포 관여제의 일차 투여 이후이고 T 세포 관여제의 이차 투여 이전이다. JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여가 T 세포 관여제의 (일차) 투여 이전 또는 이후인 경우에, JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 이런 투여는 각각, 예를 들면 T 세포 관여제의 투여 이전 또는 이후 약 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 20 시간, 24 시간, 48 시간 또는 72 시간 이내일 수 있다.

[0077] 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여보다 긴 기간 동안 이루어진다. 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 투여가 중단된 후 계속된

다. 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 단일 투여 또는 반복 투여이다. T 세포 관여제를 이용한 개체의 치료의 경과에서, T 세포 관여제는 1회 또는 수회 투여될 수 있다. 예를 들면, T 세포 관여제를 이용한 개체의 치료는 T 세포 관여제의 1회 이상 투여를 각각 포함하는 복수의 치료 주기를 포함할 수 있다. 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 일차와 이차 투여를 포함한다.

[0078] 본원 발명에 이용하기 위해, T 세포 관여제는 모범 의료행위 지침과 일치하는 방식으로 조제되고, 투약되고, 투여될 것이다. 이러한 문맥에서 고려되는 인자는 치료되는 특정 장애, 치료되는 특정 포유동물, 개별 환자의 임상적 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여의 일정, 그리고 개업의에게 공지된 다른 인자를 포함한다.

[0079] 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 유효 용량으로 이루어진다. 전신 투여의 경우, 유효 용량은 시험관내 분석, 예컨대 세포 배양 검정으로부터 초기에 추정될 수 있다. 용량은 이후, 세포 배양액에서 결정된 대로의 IC_{50}을 포함하는 순환 농도 범위를 달성하기 위해 동물 모형에서 공식화될 수 있다. 이런 정보는 인간에서 유용한 용량을 더 정확하게 결정하는 데 이용될 수 있다. 초기 용량은 또한, 당해 분야에서 널리 알려진 기술을 이용하여 생체내 데이터, 예를 들면, 동물 모형으로부터 추정될 수 있다. 복용량 및 간격은 치료 효과를 유지하는 데 충분한, T 세포 관여제의 혈장 수준을 제공하기 위해 개별적으로 조정될 수 있다. 주사에 의한 투여를 위한 통상의 환자 용량은 약 0.1 내지 50 mg/kg/일, 전형적으로 약 0.5 내지 1 mg/kg/일의 범위 안에 있다. 치료적으로 효과적인 혈장 수준은 매일 복수 용량을 투여함으로써 달성될 수 있다. 혈장에서 수준은 예를 들면, HPLC에 의해 계측될 수 있다.

[0080] T 세포 관여제의 효과량이 질환의 예방 또는 치료를 위해 투여될 수 있다. T 세포 관여제의 적합한 투여 루트와 용량은 치료되는 질환의 유형, T 세포 관여제의 유형, 질환의 심각도와 경과, 개체의 임상적 상태, 개체의 임상 병력 및 치료에 대한 반응, 그리고 주치의의 재량에 근거하여 결정될 수 있다. 투약은 임의의 적합한 루트에 의할 수 있다, 예를 들면, 부분적으로 투여가 단기 또는 장기인지에 따라서, 주사, 예컨대 정맥내 또는 피하 주사에 의할 수 있다. 단회 투여 또는 다양한 시점에 걸쳐 복수 투여, 일시 투여, 그리고 펄스 주입을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 투약 일정이 본원에서 예기된다.

[0081] T 세포 관여제 및 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 임의의 적합한 루트에 의해 투여될 수 있고, 그리고 동일한 투여 루트에 의해 또는 상이한 투여 루트에 의해 투여될 수 있다. 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 비경구, 특히 정맥내이다.

[0082] 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 개체에게 T 세포 관여제의 일차 투여, 특히 T 세포 관여제를 이용한 개체의 치료의 경과에서 T 세포 관여제의 일차 투여이다.

[0083] 일부 양상에서, T 세포 관여제 (이의 투여)는 T 세포의 활성화를 유도한다 (다시 말하면 유발하거나 또는 증가시킨다). 일부 양상에서, T 세포 관여제 (이의 투여)는 T 세포의 세포독성 활성을 유도한다. 일부 양상에서, T 세포 관여제 (이의 투여)는 T 세포에 의한 사이토킨 분비를 유도한다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-2, IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α 및 GM-CSF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨이다. 일부 양상에서, 상기 T 세포는 CD8+ T 세포 또는 CD4+ 세포이다.

[0084] 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 특히 암의 부위에서 (예를 들면 고형 종양 암 내에) T 세포, 특히 세포독성 T 세포의 활성화를 야기한다. 상기 활성화는 T 세포의 증식, T 세포의 분화, T 세포에 의한 사이토킨 분비, T 세포로부터 세포독성 효과기 분자 방출, T 세포의 세포독성 활성, 그리고 T 세포에 의한 활성화 마커의 발현을 포함할 수 있다. 일부 양상에서, T 세포 관여제의 투여는 암의 부위에서 (예를 들면 고형 종양 암 내에) T 세포, 특히 세포독성 T 세포 수의 증가를 야기한다.

[0085] "T 세포 관여제"는 T 세포, 특히 세포독성 T 세포의 활성을 통해 효과를 발휘하는 면역치료제인 것으로 의미된다. T 세포의 이런 활성은 T 세포, 특히 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포의 세포 반응(들), 예컨대 증식, 분화, 활성화 마커의 발현, 사이토킨 분비, 세포독성 효과기 분자 방출 및/또는 세포독성 활성을 포함할 수 있다. 본원에서 예기된 바와 같은 T 세포 관여제는 전형적으로, 표적 세포 예컨대 종양 세포 상에서 표적 세포 항원에 그들의 결합을 가능하게 하는 항원 결합 모이어티를 포함한다. 이런 T 세포 관여제는 T 세포의 활성을 통해, 그들의 표적 세포에 대한 효과, 예컨대 표적 세포의 용해를 발휘한다. 예시적인 T 세포 관여제는 T 세포 이중특이적 항체, 키메라 항원 수용체 (CAR) 발현 T 세포 (CAR-T 세포), 그리고 T 세포 수용체 (TCR) 기반 접근방식 예컨대 ImmTACs ("암에 대한 면역 동원 단일클론 T 세포 수용체"; T 세포 및 표적 세포에 결합할 수 있는, 조작된 TCR 및 항체 단편의 이중특이적 융합 단백질), 또는 표적 세포 (TCR-T 세포) 상에서 특이적 항원 결정인자에 결합할

수 있는 조작된 T 세포 수용체를 특징으로 하는 TCR-변형된 T 세포를 포함한다.

[0086] 본원 발명의 특정한 양상에서, T 세포 관여제는 T 세포 이중특이적 항체이다.

[0087] 다른 양상에서, T 세포 관여제는 CAR-T 세포이다. 일부 양상에서, CAR-T 세포는 보편적인 CAR-T 세포이다. "보편적인" CAR-T 세포는 어댑터 분자를 통해 표적 세포 항원에 결합하는 CAR-T 세포, 예컨대 표적 세포 항원에 결합하는 항체인 것으로 의미된다. 보편적인 CAR-T 세포는 어댑터 분자에 결합하는 항원 결합 모이어티를 포함하는 CAR을 발현하고, 그리고 상기 어댑터 분자는 표적 세포 항원에 결합한다. 상이한 어댑터 분자 (상이한 표적 세포 항원에 결합)를 통해, 보편적인 CAR-T 세포는 각 표적 세포 항원에 대한 상이한 CAR의 발현에 대한 필요 없이, 상이한 표적 세포 항원에 결합할 수 있다. 어댑터 분자는 (i) CAR에 의해 결합될 수 있고, 그리고 (ii) 표적 세포 항원에 결합할 수 있는 분자, 예컨대 예를 들면, 표적 세포 항원에 결합하고 CAR에 의해 결합될 수 있는 Fc 영역을 포함하는 항체이다. 일부 양상에서, CAR-T 세포는 항체 Fc 영역, 특히 IgG Fc 영역, 더욱 특히 IgG_1 Fc 영역, 그리고 특히 인간 Fc 영역에 결합하는 항원 결합 모이어티를 포함하는 CAR을 발현한다. 일부 양상에서, CAR-T는 아미노산 치환 P329G (Kabat EU 색인 넘버링)를 포함하는 IgG Fc 영역, 특히 인간 IgG_1 Fc 영역에 결합하는 항원 결합 모이어티를 포함하는 CAR을 발현한다. 특정한 이런 양상에서, 항원 결합 모이어티는 scFv이다. 다른 양상에서, CAR-T는 야생형 Fc 영역, 특히 야생형 인간 IgG_1 Fc 영역에 결합하는 항원 결합 모이어티를 포함하는 CAR을 발현한다. 특정한 이런 양상에서, 항원 결합 모이어티는 CD16 또는 이의 Fc 결합 단편 (예를 들면, CD16의 세포외 도메인)이다.

[0088] 일부 양상에서, T 세포 관여제는 ImmTAC이다. 일부 양상에서, T 세포 관여제는 TCR-T 세포이다.

[0089] 하기에서, 본원 발명에서 이용될 수 있는 T 세포 이중특이적 항체가 설명된다.

[0090] "T 세포 이중특이적 항체"는 T 세포 (전형적으로, T 세포 상에서 발현된 항원 결정인자, 예컨대 CD3을 통해) 및 표적 세포 (전형적으로, 표적 세포 상에서 발현된 항원 결정인자, 예컨대 CEA, CD19, CD20 또는 HLA-A2/MAGE-A4를 통해)에 결합 (동시에 결합 포함)할 수 있는 항체인 것으로 의미된다.

[0091] 본원 발명에 따른 바람직한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 T 세포 상에서 항원 결정인자 (다시 말하면 첫 번째 항원 예컨대 CD3) 및 표적 세포 상에서 항원 결정인자 (다시 말하면 두 번째 항원 예컨대 CEA, CD19, CD20 또는 HLA-A2/MAGE-A4)에 동시에 결합할 수 있다. 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3 및 표적 세포 항원에 동시 결합에 의해 T 세포 및 표적 세포를 교차연결할 수 있다. 훨씬 바람직한 양상에서, 이런 동시 결합은 표적 세포, 특히 표적 세포 항원 (예를 들면 CEA, CD19, CD20 또는 HLA-A2/MAGE-A4) 발현 종양 세포의 용해를 야기한다. 일부 양상에서, 이런 동시 결합은 T 세포의 활성화를 야기한다. 일부 양상에서, 이런 동시 결합은 증식, 분화, 사이토킨 분비, 세포독성 효과기 분자 방출, 세포독성 활성, 그리고 활성화 마커의 발현의 군에서 선택되는, T 세포의 세포 반응을 야기한다. 일부 양상에서, 표적 세포 항원에 동시 결합 없이 CD3에 대한 T 세포 이중특이적 항체의 결합은 T 세포 활성화를 야기하지 않는다. 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 T 세포의 세포독성 활성을 표적 세포로 전향시킬 수 있다. 바람직한 양상에서, 상기 전향은 표적 세포에 의한 MHC 매개 펩티드 항원 제시 및/또는 T 세포의 특이성과 무관하다.

[0092] 용어 "이중특이적"은 항체가 적어도 2개의 구별되는 항원 결정인자에 결합할 수 있다는 것을 의미한다. 전형적으로, 이중특이적 항체는 2개의 항원 결합 부위를 포함하고, 이들은 각각 상이한 항원 결정인자에 대해 특이적이다. 일정한 양상에서 이중특이적 항체는 2개의 항원 결정인자, 특히 2개의 구별되는 세포 상에서 발현되는 2개의 항원 결정인자에 동시에 결합할 수 있다.

[0093] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "항원 결정인자"는 "항원" 및 "에피토프"와 동의어이고, 그리고 항원 결합 모이어티가 결합하여 항원 결합 모이어티-항원 복합체가 형성되는, 폴리펩티드 거대분자 상에 부위 (예를 들면 아미노산의 연속 스트레치 또는 비연속 아미노산의 상이한 영역으로 구성되는 입체형태적 형상)를 지칭한다. 유용한 항원 결정인자는 예를 들면 종양 세포의 표면 상에서, 바이러스-감염된 세포의 표면 상에서, 다른 병든 세포의 표면 상에서, 면역 세포의 표면 상에서, 혈청에서 자유롭게 및/또는 세포외 기질 (ECM)에서 발견될 수 있다.

[0094] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "항원 결합 모이어티"는 항원 결정인자에 결합 (특이적으로 결합 포함)하는 폴리펩티드 분자를 지칭한다. 일부 양상에서, 항원 결합 모이어티는 자신이 부착되는 실체 (예를 들면 두 번째 항원 결합 모이어티)를 표적 부위로, 예를 들면 항원 결정인자를 보유하는 특이적 유형의 종양 세포로 지향시킬 수 있다. 추가의 양상에서, 항원 결합 모이어티는 자체의 표적 항원, 예를 들면 T 세포 수용체 복합체 항원을 통해 신호전달을 활성화할 수 있다. 항원 결합 모이어티는 본원에서 더욱 규정된 바와 같은 항체 및 이들의 단

편을 포함한다. 특정 항원 결합 모이어티는 항체 중쇄 가변 영역 및 항체 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항체의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일정한 양상에서, 항원 결합 모이어티는 본원에서 더욱 규정되고 당해 분야에서 공지된 바와 같은 항체 불변 영역을 포함할 수 있다. 유용한 중쇄 불변 영역은 5가지 아이소타입: α, δ, ε, γ, 또는 μ 중 어느 것을 포함한다. 유용한 경쇄 불변 영역은 두 가지 아이소타입: κ 및 λ 중 어느 것을 포함한다.

[0095] "특이적 결합"은 결합이 항원에 대해 선택적이고, 그리고 원치 않는 또는 비특이적 상호작용으로부터 차별될 수 있다는 것으로 의미된다. 본원에서 용어 "결합한다" 또는 "결합하는"은 일반적으로 "특이적 결합"을 지칭한다. 특이적 항원 결정인자에 결합하는 항원 결합 모이어티의 능력은 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA), 또는 당업자에게 익숙한 다른 기술, 예를 들면 표면 플라스몬 공명 (SPR) 기술 (예를 들면 BIAcore 기기에서 분석됨) (Liljeblad et al., Glyco J 17, 323-329 (2000)) 및 전통적인 결합 검정 (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002))을 통해 계측될 수 있다. 일부 양상에서, 관련 없는 단백질에 대한 항원 결합 모이어티의 결합 정도는 예를 들면, SPR에 의해 계측될 때 항원에 대한 항원 결합 모이어티의 결합의 약 10%보다 적다. 일정한 양상에서, 항원에 결합하는 항원 결합 모이어티, 또는 상기 항원 결합 모이어티를 포함하는 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면 10^{-8} M 이하, 예를 들면 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_D)를 갖는다.

[0096] "친화성"은 분자 (예를 들면, 수용체)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 파트너 (예를 들면, 리간드) 사이의 비공유 상호작용의 총계의 강도를 지칭한다. 별도로 표시되지 않는 한, 본원에서 이용된 바와 같이, "결합 친화성"은 결합 쌍의 구성원 (예를 들면, 항원 결합 모이어티 및 항원, 또는 수용체 및 이의 리간드) 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화성을 지칭한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로, 해리 상수 (K_D)에 의해 표현될 수 있는데, 이것은 해리와 연관 속도 상수 (각각, $k_{오프}$ 및 $k_{온}$)의 비율이다. 따라서, 동등한 친화성은 속도 상수의 비율이 동일하게 남아있기만 하면, 상이한 속도 상수를 포함할 수 있다. 친화성은 본원에서 설명된 것들을 비롯한, 당해 분야에서 공지된 충분히 확립된 방법에 의해 계측될 수 있다. 친화성을 계측하기 위한 특정 방법은 표면 플라스몬 공명 (SPR)이다.

[0097] "CD3"은 별도로 표시되지 않는 한, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들면, 인간), 비인간 영장류 (예를 들면, 시노몰구스 원숭이) 및 설치류 (예를 들면, 생쥐와 쥐)를 비롯한, 임의의 척추동물 공급원으로부터 임의의 선천적 CD3을 지칭한다. 상기 용어는 "전장"의 처리되지 않은 CD3뿐만 아니라 세포에서 처리로부터 발생하는 CD3의 임의의 형태를 포괄한다. 상기 용어는 또한, CD3의 자연 발생 변이체, 예를 들면, 스플라이스 변이체 또는 대립형질 변이체를 포괄한다. 일부 양상에서, CD3은 인간 CD3, 특히 인간 CD3의 엡실론 아단위 (CD3ε)이다. 인간 CD3ε의 아미노산 서열은 UniProt (www.uniprot.org) 수탁 번호 P07766 (버전 144), 또는 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_000724.1에서 도시된다. 서열 번호: 1을 또한 참조한다. 시노몰구스 [마카카 파시쿨라리스 (Macaca fascicularis)] CD3ε의 아미노산 서열은 NCBI GenBank 번호 BAB71849.1에서 도시된다. 서열 번호: 2를 또한 참조한다.

[0098] 본원에서 이용된 바와 같이 "표적 세포 항원"은 표적 세포, 예를 들면 종양에서 표적 세포 예컨대 암 세포 또는 종양 간질의 세포 (이 경우에 있어서 "종양 세포 항원")의 표면 상에서 제시된 항원 결정인자를 지칭한다. 바람직하게는, 표적 세포 항원은 CD3이 아니고 및/또는 CD3과 상이한 세포 상에서 발현된다. 일부 양상에서, 표적 세포 항원은 CEA, 특히 인간 CEA이다. 일부 양상에서, 표적 세포 항원은 CD20, 특히 인간 CD20이다. 다른 양상에서, 표적 세포 항원은 HLA-A2/MAGE-A4, 특히 인간 HLA-A2/MAGE-A4이다. 일부 양상에서, 표적 세포 항원은 CD19, 특히 인간 CD19이다.

[0099] 본원에서 이용된 바와 같이, 항원 결합 모이어티 등에 대하여 용어 "첫 번째", "두 번째" 또는 "세 번째"는 하나 초과의 각 유형의 모이어티가 있을 때 편의상 식별을 위해 이용된다. 이들 용어의 이용은 만약 명시적으로 진술되지 않는 한, 이중특이적 항체의 특정한 순서 또는 배향을 부여하는 것으로 의도되지 않는다.

[0100] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "가 (valent)"는 항체 내에 특정된 숫자의 항원 결합 부위의 존재를 표시한다. 따라서, 용어 "항원에 일가 결합"은 항체 내에 항원에 대해 특이적인 하나 (및 하나보다 많지 않은) 항원 결합 부위의 존재를 표시한다.

[0101] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미에서 이용되고, 그리고 단일클론 항체, 다중클론 항체, 다중특이적 항체 (예를 들면, 이중특이적 항체), 그리고 항체 단편 (이들이 원하는 항원 결합 활성을 나타내기만 하면)을 포함하

지만 이들에 한정되지 않는 다양한 항체 구조를 포괄한다.

[0102] 용어 "전장 항체", "무손상 항체" 및 "전체 항체"는 선천적 항체 구조와 실제적으로 유사한 구조를 갖는 항체를 지칭하기 위해 본원에서 교체가능하게 이용된다.

[0103] "항체 단편"은 무손상 항체가 결합하는 항원에 결합하는 무손상 항체의 부분을 포함하는, 무손상 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 실례는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, 디아바디, 선형 항체, 단일 사슬 항체 분자 (예를 들면 scFv), 그리고 단일 도메인 항체를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 항체 단편에 관한 검토를 위해, Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)를 참조한다. ScFv 단편에 관한 검토를 위해, 예를 들면, Plückthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)를 참조한다; 또한, WO 93/16185; 및 U.S. 특허 번호 5,571,894와 5,587,458을 참조한다. 구제 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 $F(ab')_2$ 단편에 관한 논의를 위해, U.S. 특허 번호 5,869,046을 참조한다. 디아바디는 이가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 참조: 예를 들면, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003); 및 Hollinger et al., Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993). 트리아바디 및 테트라바디 역시 Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)에서 설명된다. 단일 도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인 중에서 전부 또는 일부, 또는 항체의 경쇄 가변 도메인 중에서 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 일정한 양상에서, 단일 도메인 항체는 인간 단일 도메인 항체이다 (Domantis, Inc., Waltham, MA; 참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 6,248,516 B1). 항체 단편은 본원에서 설명된 바와 같이, 무손상 항체의 단백질분해성 소화뿐만 아니라 재조합 숙주 세포 (예를 들면 대장균 (E. coli) 또는 파지)에 의한 생산을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 만들어질 수 있다.

[0104] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체를 항원에 결합시키는 데 관련되는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 선천적 항체의 중쇄와 경쇄의 가변 도메인 (각각, VH와 VL)은 일반적으로 유사한 구조를 갖는데, 각 도메인이 4개의 보존된 프레임워크 영역 (FR) 및 3개의 초가변 영역 (HVR)을 포함한다. 참조: 예를 들면, Kindt et al., Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., 페이지 91 (2007). 단일 VH 또는 VL 도메인이 항원 결합 특이성을 부여하는 데 충분할 수 있다. 가변 영역 서열과 관련하여 본원에서 이용된 바와 같이, "Kabat 넘버링"은 Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)에 의해 진술된 넘버링 시스템을 지칭한다.

[0105] 본원에서 이용된 바와 같이, 중쇄와 경쇄의 모든 불변 영역과 도메인의 아미노산 위치는 본원에서 "Kabat에 따른 넘버링" 또는 "Kabat 넘버링"으로서 지칭되는, Kabat, et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)에서 설명된 Kabat 넘버링 시스템에 따라서 넘버링된다. 구체적으로 Kabat 넘버링 시스템 (Kabat, et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)의 페이지 647-660을 참조한다)은 카파와 람다 아이소타입의 경쇄 불변 도메인 CL에 이용되고, 그리고 Kabat EU 색인 넘버링 시스템 (페이지 661-723을 참조한다)은 중쇄 불변 도메인 (CH1, 힌지, CH2 및 CH3)에 이용되는데, 이것은 본원에서 이 경우에 있어서 "Kabat EU 색인에 따른 넘버링"을 참조함으로써 더욱 명료해진다.

[0106] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "초가변 영역" 또는 "HVR"은 서열에서 초가변성이고 항원 결합 특이성을 결정하는 항체 가변 도메인의 각 영역, 예를 들면 "상보성 결정 영역" ("CDR")을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 CDR; VH에서 3개 (HCDR1, HCDR2, HCDR3), 그리고 VL에서 3개 (LCDR1, LCDR2, LCDR3)를 포함한다. 본원에서 예시적인 CDR은 하기를 포함한다:

[0107] (a) 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), 그리고 96-101 (H3)에서 발생하는 초가변 루프 (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987));

[0108] (b) 아미노산 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2), 그리고 95-102 (H3)에서 발생하는 CDR (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)); 그리고

[0109] (c) 아미노산 잔기 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2), 그리고 93-101 (H3)에서 발생하는 항원 접촉 (MacCallum et al. *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996)).

[0110] 별도로 표시되지 않는 한, CDR은 Kabat et al.,(상기 참조)에 따라서 결정된다. 당업자는 CDR 지정이 Chothia (상기 참조), McCallum(상기 참조), 또는 임의의 다른 과학적으로 용인된 명명법 시스템에 따라서 또한 결정될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0111] "프레임워크" 또는 "FR"은 초가변 영역 (HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다. 가변 도메인의 FR은 일반적으로 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3 및 FR4로 구성된다. 따라서, HVR 및 FR 서열은 일반적으로 VH (또는 VL)에서 하기 순서로 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0112] 항체 또는 면역글로불린의 "부류"는 이의 중쇄에 의해 소유된 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 항체의 5가지 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있고, 그리고 이들 중에서 몇몇은 하위부류 (아이소타입), 예를 들면, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1 및 IgA_2로 더욱 나눠질 수 있다. 면역글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각, α, δ, ε, γ 및 μ로 불린다.

[0113] "Fab 분자"는 면역글로불린의 중쇄의 VH와 CH1 도메인 ("Fab 중쇄") 및 경쇄의 VL과 CL 도메인 ("Fab 경쇄")으로 구성되는 단백질을 지칭한다.

[0114] "교차" Fab 분자 ("Crossfab"로 또한 명명됨)는 Fab 중쇄와 경쇄의 가변 도메인 또는 불변 도메인이 교환되는 (다시 말하면, 서로 대체되는) Fab 분자인 것으로 의미된다, 다시 말하면, 교차 Fab 분자는 경쇄 가변 도메인 VL 및 중쇄 불변 도메인 1 CH1로 구성되는 펩티드 사슬 (VL-CH1, N에서 C 말단 방향으로), 그리고 중쇄 가변 도메인 VH 및 경쇄 불변 도메인 CL로 구성되는 펩티드 사슬 (VH-CL, N에서 C 말단 방향으로)을 포함한다. 명료함을 위해, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 도메인이 교환되는 교차 Fab 분자에서, 중쇄 불변 도메인 1 CH1을 포함하는 펩티드 사슬은 본원에서 (교차) Fab 분자의 "중쇄" 로서 지칭된다. 반대로, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 불변 도메인이 교환되는 교차 Fab 분자에서, 중쇄 가변 도메인 VH를 포함하는 펩티드 사슬은 본원에서 (교차) Fab 분자의 "중쇄" 로서 지칭된다.

[0115] 그것과 대조적으로, "전통적인" Fab 분자는 이의 자연 형식에서, 다시 말하면, 중쇄 가변과 불변 도메인으로 구성되는 중쇄 (VH-CH1, N에서 C 말단 방향으로), 그리고 경쇄 가변과 불변 도메인으로 구성되는 경쇄 (VL-CL, N에서 C 말단 방향으로)를 포함하는 Fab 분자인 것으로 의미된다.

[0116] 용어 "면역글로불린 분자"는 자연 발생 항체의 구조를 갖는 단백질을 지칭한다. 예를 들면, IgG 부류의 면역글로불린은 이황화 결합되는 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄로 구성되는, 약 150,000 달톤의 이종사합체성 당단백질이다. N 말단으로부터 C 말단으로, 각 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 영역으로 또한 불리는 가변 도메인 (VH), 그 이후에 중쇄 불변 영역으로 또한 불리는 3개의 불변 도메인 (CH1, CH2 및 CH3)을 갖는다. 유사하게, N 말단으로부터 C 말단으로, 각 경쇄는 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 영역으로 또한 불리는 가변 도메인 (VL), 그 이후에 경쇄 불변 영역으로 또한 불리는 불변 경쇄 (CL) 도메인을 갖는다. 면역글로불린의 중쇄는 α (IgA), δ (IgD), ε (IgE), γ (IgG), 또는 μ (IgM)으로 불리는 5가지 유형 중에서 한 가지에 배정될 수 있으며, 이들 중에서 일부는 아형, 예를 들면 $γ_1$ (IgG_1), $γ_2$ (IgG_2), $γ_3$ (IgG_3), $γ_4$ (IgG_4), $α_1$ (IgA_1) 및 $α_2$ (IgA_2)로 더욱 나눠질 수 있다. 면역글로불린의 경쇄는 이의 불변 도메인의 아미노산 서열에 근거하여, 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 불리는 두 가지 유형 중에서 한 가지에 배정될 수 있다. 면역글로불린은 본질적으로, 면역글로불린 힌지 영역을 통해 연결된, 2개의 Fab 분자 및 Fc 도메인으로 구성된다.

[0117] 본원에서 용어 "Fc 도메인" 또는 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 내포하는, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 규정하는 데 이용된다. 상기 용어는 선천적 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 비록 IgG 중쇄의 Fc 영역의 경계가 약간 변할 수도 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 통상적으로, Cys226부터, 또는 Pro230부터 중쇄의 카르복실 말단까지 걸쳐있는 것으로 규정된다. 하지만, 숙주 세포에 의해 생산되는 항체는 중쇄의 C 말단으로부터 하나 이상, 특히 1개 또는 2개의 아미노산의 번역후 개열을 겪을 수 있다. 이런 이유로 전장 중쇄를 인코딩하는 특이적 핵산 분자의 발현에 의해 숙주 세포에 의해 생산되는 항체는 전장 중쇄를 포함할 수 있거나, 또는 이것은 전장 중쇄의 개열된 변이체를 포함할 수 있다. 이것은 중쇄의 최종 2개의 C 말단 아미노산이 글리신 (G446) 및 리신 (K447, Kabat EU 색인에 따른 넘버링)인 경우에 그러할 수 있다. 이런 이유로, Fc 영역의 C 말단 리신 (Lys447), 또는 C 말단 글리신 (Gly446) 및 리신 (K447)은 존재하거나 존재하지 않을 수 있다. 본원에서 별도로 특정되지 않는 한, Fc 영역 또는 불변 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991에서 설명된 바와 같이, EU 색인으로 또한 불리는 EU 넘버링 시스템에 따른다 (또한 상기 참조). 본원에서 이용된 바와 같이, Fc 도메인의 "아단위"는 이합체성 Fc 도메인을 형성

하는 2개의 폴리펩티드 중에서 하나, 다시 말하면, 안정되게 자가 결합할 수 있는, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 예를 들면, IgG Fc 도메인의 아단위는 IgG CH2 및 IgG CH3 불변 도메인을 포함한다.

[0118] "Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형"은 동종이합체를 형성하는, Fc 도메인 아단위를 포함하는 폴리펩티드의 동일한 폴리펩티드와의 연관을 감소시키거나 또는 예방하는 펩티드 백본의 조작 또는 Fc 도메인 아단위의 번역후 변형이다. 본원에서 이용된 바와 같이, 연결을 증진하는 변형은 특히, 연결하기 원하는 2개의 Fc 도메인 아단위 각각 (다시 말하면, Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위)에 만들어진 별개의 변형을 포함하고, 여기서 이들 변형은 2개의 Fc 도메인 아단위의 연결을 증진하기 위해 서로에 상보적이다. 예를 들면, 연결을 증진하는 변형은 Fc 도메인 아단위의 연결을 각각, 입체적으로 또는 정전으로 우호적으로 만들기 위해, 이들 중에서 하나 또는 둘 모두의 구조 또는 전하를 변경할 수 있다. 따라서, 각각의 아단위 (예를 들면 항원 결합 모이어티)에 융합된 추가 구성요소가 동일하지 않다는 의미에서 비동일할 수도 있는, 첫 번째 Fc 도메인 아단위를 포함하는 폴리펩티드 및 두 번째 Fc 도메인 아단위를 포함하는 폴리펩티드 사이에서 (이종)이합체화가 일어난다. 일부 양상에서 연결을 증진하는 변형은 Fc 도메인에서 아미노산 돌연변이, 특이적으로 아미노산 치환을 포함한다. 특정한 양상에서, 연결을 증진하는 변형은 Fc 도메인의 2개의 아단위 각각에서 별개의 아미노산 돌연변이, 특이적으로 아미노산 치환을 포함한다.

[0119] 용어 "효과기 기능"은 항체의 Fc 영역에 기인한 생물학적 활성을 지칭하는데, 이들은 항체 아이소타입에 따라서 변한다. 항체 효과기 기능의 실례는 다음을 포함한다: C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC), Fc 수용체 결합, 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 (ADCC), 항체 의존성 세포 식균작용 (ADCP), 사이토킨 분비, 항원 제시 세포에 의한 면역 복합체 매개된 항원 흡수, 세포 표면 수용체 (예를 들면 B 세포 수용체)의 하향조절, 그리고 B 세포 활성화.

[0120] 참조 폴리펩티드 서열에 대하여 "퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성"은 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 필요하면, 갭을 도입한 후에, 그리고 임의의 보존성 치환을 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않고, 참조 폴리펩티드 서열 내에 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열 내에 아미노산 잔기의 백분율로서 규정된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적을 위한 정렬은 당해 분야의 기술 범위 안에 있는 다양한 방식으로, 예를 들면, 공개적으로 가용한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, Clustal W, Megalign (DNASTAR) 소프트웨어 또는 FASTA 프로그램 패키지를 이용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여, 서열을 정렬하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 하지만, 본원에서 목적을 위해, % 아미노산 서열 동일성 값은 BLOSUM50 비교 매트릭스와 함께 FASTA 패키지 버전 36.3.8c 또는 그 후속 버전의 ggsearch 프로그램을 이용하여 생성된다. FASTA 프로그램 패키지는 W. R. Pearson and D. J. Lipman (1988), "Improved Tools for Biological Sequence Analysis", PNAS 85:2444-2448; W. R. Pearson (1996) "Effective protein sequence comparison" Meth. Enzymol. 266:227- 258; 및 Pearson et. al. (1997) Genomics 46:24-36에 의해 저술되었고, 그리고 http://fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml로부터 공개적으로 가용하다. 대안으로, 국부보다는 전역 정렬이 수행되도록 담보하기 위해 ggsearch (global protein:protein) 프로그램 및 디폴트 옵션 (BLOSUM50; 개방: -10; ext: -2; Ktup = 2)을 이용하여, http://fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/index.cgi에서 접근 가능한 공개 서버가 서열을 비교하는 데 이용될 수 있다. 퍼센트 아미노산 동일성은 출력 정렬 헤더에서 제공된다.

[0121] "활성화 Fc 수용체"는 항체의 Fc 도메인에 의한 인게이지먼트 이후에, 수용체-보유 세포가 효과기 기능을 수행하도록 자극하는 신호전달 사건을 이끌어 내는 Fc 수용체이다. 인간 활성화 Fc 수용체는 FcγRIIIa (CD16a), FcγRI (CD64), FcγRIIa (CD32) 및 FcαRI (CD89)를 포함한다.

[0122] "감소된 결합", 예를 들면 Fc 수용체에 감소된 결합은 예를 들면 SPR에 의해 계측될 때, 개별 상호작용에 대한 친화성에서 감소를 지칭한다. 명료함을 위해, 상기 용어는 또한, 제로 (또는 분석 방법의 검출 한계 미만)까지 친화성의 감소, 다시 말하면, 상호작용의 완전한 소멸을 포함한다. 반대로, "증가된 결합"은 개별 상호작용에 대한 결합 친화성에서 증가를 지칭한다.

[0123] "융합된"은 구성요소 (예를 들면 Fab 분자 및 Fc 도메인 아단위)가 직접적으로 또는 하나 이상의 펩티드 링커를 통해, 펩티드 결합에 의해 연결되는 것으로 의미된다.

[0124] 특정한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3 및 표적 세포 항원에 결합한다. 따라서, 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3에 결합하는 항원 결합 모이어티 및 표적 세포 항원에 결합하는 항원 결합 모이어티를

포함한다.

[0125] 일부 양상에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 분자이다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나가 교환되는 교차 Fab 분자이다. 이런 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 바람직하게는 전통적인 Fab 분자이다.

[0126] T 세포 이중특이적 항체의 첫 번째와 두 번째 항원 결합 모이어티가 둘 모두 Fab 분자이고, 그리고 이들 항원 결합 모이어티 중 하나 (특히 첫 번째 항원 결합 모이어티)에서, Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 도메인 VL 및 VH가 서로 대체되는 일부 양상에서,

[0127] i) 첫 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 양으로 하전된 아미노산에 의해 치환되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 또는 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 음으로 하전된 아미노산에 의해 치환되거나; 또는

[0128] ii) 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 양으로 하전된 아미노산에 의해 치환되고, 그리고 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 또는 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 음으로 하전된 아미노산에 의해 치환된다.

[0129] T 세포 이중특이적 항체는 i) 및 ii) 하에 언급된 변형 둘 모두를 포함하지는 않는다. VH/VL 교환을 갖는 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 및 CH1은 서로 대체되지 않는다 (다시 말하면, 교환되지 않은 상태로 남아있다).

[0130] 더 특정한 양상에서,

[0131] i) 첫 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 또는 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환되거나; 또는

[0132] ii) 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되고, 그리고 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 또는 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환된다.

[0133] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되고, 그리고 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 또는 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환된다.

[0134] 추가의 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되고, 그리고 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환된다.

[0135] 바람직한 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되며, 그리고 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환된다.

[0136] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K)에 의해 치환되고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K)에 의해 치환되며, 그리고 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환되고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산

(E)에 의해 치환된다.

[0137] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K)에 의해 치환되고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 아르기닌 (R)에 의해 치환되며, 그리고 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환되고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환된다.

[0138] 특정한 양상에서, 만약 상기 양상에 따른 아미노산 치환이 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL 및 불변 도메인 CH1에서 만들어지면, 두 번째 항원 결합 모이어티의 불변 도메인 CL은 카파 아이소타입이다.

[0139] 일부 양상에서, 첫 번째와 두 번째 항원 결합 모이어티는 임의적으로 펩티드 링커를 통해 서로 융합된다.

[0140] 일부 양상에서, 첫 번째와 두 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자이고, 그리고 (i) 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되거나, 또는 (ii) 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 두 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합된다.

[0141] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3에 대한 일가 결합을 제공한다.

[0142] 특정한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3에 결합하는 단일 항원 결합 모이어티, 그리고 표적 세포 항원에 결합하는 2개의 항원 결합 모이어티를 포함한다. 따라서, 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 표적 항원에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티, 특히 Fab 분자, 더욱 특히 전통적인 Fab 분자를 포함한다. 세 번째 항원 결합 모이어티는 두 번째 항원 결합 모이어티와 관련하여 본원에서 설명된 모든 특질 (예를 들면 CDR 서열, 가변 영역 서열 및/또는 불변 영역 내에 아미노산 치환)을 단독적으로 또는 조합으로 통합할 수 있다. 일부 양상에서, 세 번째 항원 모이어티는 첫 번째 항원 결합 모이어티와 동일하다 (예를 들면 또한 전통적인 Fab 분자이고 동일한 아미노산 서열을 포함한다).

[0143] 특정한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 더욱 포함한다. 일부 양상에서, Fc 도메인은 IgG Fc 도메인이다. 특정한 양상에서, Fc 도메인은 IgG_1 Fc 도메인이다. 다른 양상에서, Fc 도메인은 IgG_4 Fc 도메인이다. 더 특정한 양상에서, Fc 도메인은 위치 S228 (Kabat EU 색인 넘버링)에서 아미노산 치환, 특히 아미노산 치환 S228P를 포함하는 IgG_4 Fc 도메인이다. 이러한 아미노산 치환은 IgG_4 항체의 생체내 Fab 팔 교환을 감소시킨다 (참조: Stubenrauch et al., Drug Metabolism and Disposition 38, 84-91 (2010)). 더 특정한 양상에서, Fc 도메인은 인간 Fc 도메인이다. 특히 바람직한 양상에서, Fc 도메인은 인간 IgG_1 Fc 도메인이다. 인간 IgG_1 Fc 영역의 예시적인 서열은 서열 번호: 3에서 제공된다.

[0144] 첫 번째, 두 번째 및 존재하는 경우에, 세 번째 항원 결합 모이어티가 각각 Fab 분자인 일부 양상에서, (a) (i) 두 번째 항원 결합 모이어티가 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고 첫 번째 항원 결합 모이어티가 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되거나, 또는 (ii) 첫 번째 항원 결합 모이어티가 Fab 중쇄의 C 말단에서 두 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고 두 번째 항원 결합 모이어티가 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고; 그리고 (b) 세 번째 항원 결합 모이어티 (존재하는 경우에)가 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합된다.

[0145] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 첫 번째, 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티 (특히 Fab 분자), 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인, 그리고 임의적으로 하나 이상의 펩티드 링커로 본질적으로 구성된다.

[0146] T 세포 이중특이적 항체의 이들 구성요소는 직접적으로, 또는 바람직하게는, 하나 이상의 적합한 펩티드 링커를 통해 서로 융합될 수 있다. Fab 분자가 Fc 도메인의 아단위의 N 말단에 융합되는 경우에, 이것은 전형적으로 면역글로불린 힌지 영역을 통해서 이다.

[0147] 항원 결합 모이어티는 직접적으로, 또는 하나 이상의 아미노산, 전형적으로 약 2-20개의 아미노산을 포함하는 펩티드 링커를 통해 Fc 도메인에 또는 서로 융합될 수 있다. 펩티드 링커는 당해 분야에서 공지되고 본원에서 설명된다. 적합한, 비면역원성 펩티드 링커는 예를 들면, $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$, $(G_4S)_n$, $G_4(SG_4)_n$ 또는 $(G_4S)_nG_5$ 펩티드 링커를 포함한다. "n"은 일반적으로 1 내지 10, 전형적으로 2 내지 4의 정수이다. 일부 양상에서, 상기 펩티드

링커는 적어도 5개 아미노산의 길이, 일부 양상에서 5 내지 100개, 추가의 양상에서 10 내지 50개 아미노산의 길이를 갖는다. 일부 양상에서 상기 펩티드 링커는 $(GxS)_n$ 또는 $(GxS)_nG_m$이며, 여기서 G=글리신, S=세린, 그리고 (x=3, n= 3, 4, 5 또는 6, 그리고 m=0, 1, 2 또는 3) 또는 (x=4, n=1, 2, 3, 4 또는 5, 그리고 m= 0, 1, 2, 3, 4 또는 5)이고, 일부 양상에서 x=4 및 n=2 또는 3이고, 추가의 양상에서 x=4 및 n=2이고, 다른 추가 양상에서 x=4, n=1 및 m=5이다. 일부 양상에서, 상기 펩티드 링커는 $(G_4S)_2$이다. 다른 양상에서, 상기 펩티드 링커는 G_4SG_5이다. 추가적으로, 링커는 면역글로불린 힌지 영역 (이의 일부)을 포함할 수 있다. 특히 Fab 분자가 Fc 도메인 아단위의 N 말단에 융합되는 경우에, 이것은 추가 펩티드 링커와 함께 또는 이것 없이, 면역글로불린 힌지 영역 또는 이의 부분을 통해 융합될 수 있다.

[0148] 특정한 양상에서, Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함한다. 인간 IgG Fc 도메인의 2개의 아단위 사이에서 가장 광범위한 단백질-단백질 상호작용의 부위는 CH3 도메인 내에 있다. 따라서, 일부 양상에서, 상기 변형은 Fc 도메인의 CH3 도메인 내에 있다.

[0149] 특정한 양상에서, Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 상기 변형은 Fc 도메인의 2개의 아단위 중 하나에서 "노브" 변형 및 Fc 도메인의 2개의 아단위 중 다른 하나에서 "홀" 변형을 포함하는, 이른바 "노브 인투 홀" 변형이다. 노브 인투 홀 기술은 예를 들면 US 5,731,168; US 7,695,936; Ridgway et al., Prot Eng 9, 617-621 (1996) 및 Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)에서 설명된다. 일반적으로, 상기 방법은 이종이합체 형성을 증진하고 동종이합체 형성을 방해하기 위해 융기가 공동 내에 배치될 수 있도록, 융기 ("노브")를 첫 번째 폴리펩티드의 인터페이스에서, 그리고 상응하는 공동 ("홀")을 두 번째 폴리펩티드의 인터페이스 내에 도입하는 것을 수반한다. 융기는 첫 번째 폴리펩티드의 인터페이스로부터 작은 아미노산 측쇄를 더 큰 측쇄 (예를 들면 티로신 또는 트립토판)로 대체함으로써 작제된다. 융기와 동일한 또는 유사한 크기의 보상성 공동은 큰 아미노산 측쇄를 더 작은 아미노산 측쇄 (예를 들면, 알라닌 또는 트레오닌)로 대체함으로써 두 번째 폴리펩티드의 인터페이스 내에 창출된다.

[0150] 따라서, 일부 양상에서, Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 CH3 도메인 내에 아미노산 잔기가 더 큰 측쇄 용적을 갖는 아미노산 잔기로 대체되고, 그것에 의하여 두 번째 아단위의 CH3 도메인 내에 공동에서 위치 가능한 첫 번째 아단위의 CH3 도메인 내에 융기가 생성되고, 그리고 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 CH3 도메인 내에 아미노산 잔기가 더 작은 측쇄 용적을 갖는 아미노산 잔기로 대체되고, 그것에 의하여 첫 번째 아단위의 CH3 도메인 내에 융기가 위치 가능한 두 번째 아단위의 CH3 도메인 내에 공동이 생성된다. 바람직하게는 더 큰 측쇄 용적을 갖는 상기 아미노산 잔기는 아르기닌 (R), 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y) 및 트립토판 (W)으로 구성된 군에서 선택된다. 바람직하게는 더 작은 측쇄 용적을 갖는 상기 아미노산 잔기는 알라닌 (A), 세린 (S), 트레오닌 (T) 및 발린 (V)으로 구성된 군에서 선택된다. 융기 및 공동은 이들 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을, 예를 들면 부위 특이적 돌연변이유발에 의해, 또는 펩티드 합성에 의해 변경함으로써 만들어질 수 있다.

[0151] 특정한 이런 양상에서, Fc 도메인의 첫 번째 아단위 내에 위치 366에서 트레오닌 잔기가 트립토판 잔기 (T366W)로 대체되고, 그리고 Fc 도메인의 두 번째 아단위 내에 위치 407에서 티로신 잔기가 발린 잔기 (Y407V)로 대체되고, 그리고 임의적으로 위치 366에서 트레오닌 잔기가 세린 잔기 (T366S)로 대체되고 위치 368에서 류신 잔기가 알라닌 잔기 (L368A)로 대체된다 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링). 추가의 양상에서, Fc 도메인의 첫 번째 아단위 내에 추가적으로 위치 354에서 세린 잔기가 시스테인 잔기 (S354C)로 대체되거나 또는 위치 356에서 글루타민산 잔기가 시스테인 잔기 (E356C)로 대체되고 (특히 위치 354에서 세린 잔기가 시스테인 잔기로 대체되고), 그리고 Fc 도메인의 두 번째 아단위 내에 추가적으로 위치 349에서 티로신 잔기가 시스테인 잔기 (Y349C)에 의해 대체된다 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링). 바람직한 양상에서, Fc 도메인의 첫 번째 아단위는 아미노산 치환 S354C 및 T366W를 포함하고, 그리고 Fc 도메인의 두 번째 아단위는 아미노산 치환 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)를 포함한다.

[0152] 일부 양상에서, Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0153] 특정한 양상에서, Fc 수용체는 Fcɣ 수용체이다. 일부 양상에서, Fc 수용체는 인간 Fc 수용체이다. 일부 양상에서, Fc 수용체는 활성화 Fc 수용체이다. 특정한 양상에서, Fc 수용체는 활성화 인간 Fcɣ 수용체, 더 특정하게는 인간 FcɣRIIIa, FcɣRI 또는 FcɣRIIa, 가장 특정하게는 인간 FcɣRIIIa이다. 일부 양상에서, 효과기 기능은 보체 의존성 세포독성 (CDC), 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 (ADCC), 항체 의존성 세포 식균작용 (ADCP), 그리고 사이토킨 분비의 군에서 선택되는 한 가지 이상이다. 특정한 양상에서, 효과기 기능은

ADCC이다.

[0154] 전형적으로, 동일한 하나 이상의 아미노산 치환이 Fc 도메인의 2개의 아단위 각각에서 존재한다. 일부 양상에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 Fc 수용체에 대한 Fc 도메인의 결합 친화성을 감소시킨다. 일부 양상에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 Fc 수용체에 대한 Fc 도메인의 결합 친화성을 적어도 2배, 적어도 5배, 또는 적어도 10배 감소시킨다.

[0155] 일부 양상에서, Fc 도메인은 E233, L234, L235, N297, P331 및 P329 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)의 군에서 선택되는 위치에서 아미노산 치환을 포함한다. 더 특정한 양상에서, Fc 도메인은 L234, L235 및 P329 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)의 군에서 선택되는 위치에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 양상에서, Fc 도메인은 아미노산 치환 L234A 및 L235A (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)를 포함한다. 일부 이런 양상에서, Fc 도메인은 IgG_1 Fc 도메인, 특히 인간 IgG_1 Fc 도메인이다. 일부 양상에서, Fc 도메인은 위치 P329에서 아미노산 치환을 포함한다. 더 특정한 양상에서, 아미노산 치환은 P329A 또는 P329G, 특히 P329G (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이다. 일부 양상에서, Fc 도메인은 위치 P329에서 아미노산 치환, 그리고 E233, L234, L235, N297 및 P331 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)에서 선택되는 위치에서 추가 아미노산 치환을 포함한다. 더 특정한 양상에서, 추가 아미노산 치환은 E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D 또는 P331S이다. 특정한 양상에서, Fc 도메인은 위치 P329, L234 및 L235 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)에서 아미노산 치환을 포함한다. 더 특정한 양상에서, Fc 도메인은 아미노산 돌연변이 L234A, L235A 및 P329G ("P329G LALA", "PGLALA" 또는 "LALAPG")를 포함한다. 구체적으로, 바람직한 양상에서, Fc 도메인의 각 아단위는 아미노산 치환 L234A, L235A 및 P329G (Kabat EU 색인 넘버링)를 포함한다, 다시 말하면, Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위 각각에서 위치 234에서 류신 잔기가 알라닌 잔기 (L234A)로 대체되고, 위치 235에서 류신 잔기가 알라닌 잔기 (L235A)로 대체되고, 그리고 위치 329에서 프롤린 잔기가 글리신 잔기 (P329G)에 의해 대체된다 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링). 일부 이런 양상에서, Fc 도메인은 IgG_1 Fc 도메인, 특히 인간 IgG_1 Fc 도메인이다.

[0156] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원은 암배아 항원 (CEA)이다.

[0157] "암배아 항원" 또는 "CEA" (암배아 항원 관련 세포 부착 분자 5 (CEACAM5)로서 또한 알려져 있음)는 별도로 표시되지 않는 한, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들면, 인간), 비인간 영장류 (예를 들면, 시노몰구스 원숭이) 및 설치류 (예를 들면, 생쥐와 쥐)를 비롯한, 임의의 척추동물 공급원으로부터 임의의 선천적 CEA를 지칭한다. 상기 용어는 "전장"의 처리되지 않은 CEA뿐만 아니라 세포에서 처리로부터 발생하는 CEA의 임의의 형태를 포괄한다. 상기 용어는 또한, CEA의 자연 발생 변이체, 예를 들면, 스플라이스 변이체 또는 대립형질 변이체를 포괄한다. 일부 양상에서, CEA는 인간 CEA이다. 인간 CEA의 아미노산 서열은 UniProt (www.uniprot.org) 수탁 번호 P06731, 또는 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_004354.2에서 도시된다. 일부 양상에서, CEA는 세포막 결합된 CEA이다. 일부 양상에서, CEA는 세포, 예를 들면 암 세포의 표면 상에서 발현되는 CEA이다.

[0158] CEA에 결합하는, 본원 발명에 유용한 T 세포 이중특이적 항체는 예를 들면, PCT 공개 번호 WO 2014/131712 (본원에서 온전히 참조로서 편입됨)에서 설명된다.

[0159] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3에 결합하는 첫 번째 항원 결합 모이어티, 그리고 CEA에 결합하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함한다.

[0160] 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 4의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0161] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 12의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 13의 HCDR2 및 서열 번호: 14의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 15의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 16의 LCDR2 및 서열 번호: 17의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0162] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는

[0163] (i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 4의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티; 그리고

[0164] (ii) CEA에 결합하고, 서열 번호: 12의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 13의 HCDR2 및 서열 번호: 14의 HCDR3

을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 15의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 16의 LCDR2 및 서열 번호: 17의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함한다.

[0165] 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0166] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 18의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 19의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 18의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 19의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0167] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 본원에서 설명된 바와 같이, CEA에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티 및/또는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함한다.

[0168] 바람직한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는

[0169] (i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 4의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나, 특히 불변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고;

[0170] (ii) CEA에 결합하고, 서열 번호: 12의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 13의 HCDR2 및 서열 번호: 14의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 15의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 16의 LCDR2 및 서열 번호: 17의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자, 특히 전통적인 Fab 분자이고;

[0171] (iii) 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하고,

[0172] 여기서 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 세 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합된다.

[0173] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CEA 및 CD3에 결합하는)의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0174] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CEA 및 CD3에 결합하는)의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 18의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 19의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 18의 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 19의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0175] 상기 양상에 따른 Fc 도메인은 Fc 도메인과 관련하여 전술된 모든 특질을 단독적으로 또는 조합으로 통합할 수 있다.

[0176] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CEA 및 CD3에 결합하는)의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함하고, 및/또는 상기 Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0177] 일부 양상에서, 항원 결합 모이어티 및 Fc 영역은 펩티드 링커에 의해, 특히 서열 번호: 21 및 서열 번호: 23의 경우에서와 같은 펩티드 링커에 의해 서로 융합된다.

[0178] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CEA 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 20의 서열과 적어도 80%, 85%,

90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 21의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 22의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 23의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CEA 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 20의 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 21의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 22의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 23의 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0179] 바람직한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 시비사타맙 (WHO Drug Information (International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances), Recommended INN: List 80, 2018, vol. 32, no. 3, p. 438)이다.

[0180] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원은 CD20이다.

[0181] "B-림프구 항원 B1"로서 또한 알려져 있는 "CD20"은 별도로 표시되지 않는 한, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들면, 인간), 비인간 영장류 (예를 들면, 시노몰구스 원숭이) 및 설치류 (예를 들면, 생쥐와 쥐)를 비롯한, 임의의 척추동물 공급원으로부터 임의의 선천적 CD20을 지칭한다. 상기 용어는 "전장"의 처리되지 않은 CD20뿐만 아니라 세포에서 처리로부터 발생하는 CD20의 임의의 형태를 포괄한다. 상기 용어는 또한, CD20의 자연 발생 변이체, 예를 들면, 스플라이스 변이체 또는 대립형질 변이체를 포괄한다. 일부 양상에서, CD20은 인간 CD20이다. 인간 CD20은 UniProt (www.uniprot.org) 수탁 번호 P11836 (엔트리 버전 200)에서 설명되고, 그리고 인간 CD20의 아미노산 서열은 또한, 서열 번호: 36에서 도시된다.

[0182] CD20에 결합하는, 본원 발명에 유용한 T 세포 이중특이적 항체는 예를 들면, PCT 공개 번호 WO 2016/020309 (본원에서 온전히 참조로서 편입됨)에서 설명된다.

[0183] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3에 결합하는 첫 번째 항원 결합 모이어티, 그리고 CD20에 결합하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함한다.

[0184] 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 4의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0185] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 24의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 25의 HCDR2 및 서열 번호: 26의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 27의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 28의 LCDR2 및 서열 번호: 29의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0186] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는

[0187] (i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 4의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티; 그리고

[0188] (ii) CD20에 결합하고, 서열 번호: 24의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 25의 HCDR2 및 서열 번호: 26의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 27의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 28의 LCDR2 및 서열 번호: 29의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함한다.

[0189] 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0190] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 30의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 31의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 30의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 31의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0191] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 본원에서 설명된 바와 같이, CD20에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티 및/또는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함한다.

[0192] 바람직한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는

[0193] (i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 4의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 6의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나, 특히 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고;

[0194] (ii) CD20에 결합하고, 서열 번호: 24의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 25의 HCDR2 및 서열 번호: 26의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 27의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 28의 LCDR2 및 서열 번호: 29의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자, 특히 전통적인 Fab 분자이고;

[0195] (iii) 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하고,

[0196] 여기서 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 세 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합된다.

[0197] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD20 및 CD3에 결합하는)의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고, 그리고 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되며, 그리고 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환되는 전통적인 Fab 분자이다.

[0198] 특히, 상기 양상에서, (ii) 하에 두 번째와 세 번째 Fab 분자의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K)에 의해 치환될 수 있고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K) 또는 아르기닌 (R)에 의해, 특히 아르기닌 (R)에 의해 치환될 수 있으며, 그리고 (ii) 하에 두 번째와 세 번째 Fab 분자의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환될 수 있고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환될 수 있다.

[0199] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD20 및 CD3에 결합하는)의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 10의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 11의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0200] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD20 및 CD3에 결합하는)의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 30의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 31의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 30의 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 31의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0201] 상기 양상에 따른 Fc 도메인은 Fc 도메인과 관련하여 전술된 모든 특질을 단독적으로 또는 조합으로 통합할 수 있다.

[0202] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD20 및 CD3에 결합하는)의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함하고, 및/또는 상기 Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0203] 일부 양상에서, 항원 결합 모이어티 및 Fc 영역은 펩티드 링커에 의해, 특히 서열 번호: 33 및 서열 번호: 35의 경우에서와 같은 펩티드 링커에 의해 서로 융합된다.

[0204] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD20 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 32의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 33의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 34의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 35의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD20 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 32의 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 33의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 34의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 35의 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0205] 바람직한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 글로피타맵 (WHO Drug Information (International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances), Recommended INN: List 83, 2020, vol. 34, no. 1, p. 39)이다.

[0206] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원은 HLA-A2/MAGE-A4이다.

[0207] "MAGE-A4"는 암 정소 항원 (CTA)의 MAGE 패밀리의 구성원인 "흑색종 관련 항원 4"를 의미한다. 단백질의 MAGE-A 패밀리는 Xq26-28에서 군집화된 12개의 고도로 상동한 유전자를 포괄하고 보존된 도메인 (MAGE 상동성 도메인, MHD)의 존재에 의해 특징화된다. 인간 MAGE-A4는 UniProt (www.uniprot.org) 수탁 번호 P43358 (엔트리 버전 163)에서 설명되고, 그리고 인간 MAGE-A4의 아미노산 서열은 또한, 본원의 서열 번호: 57에서 도시된다. 본원에서 이용된 바와 같이, "MAGE-A4"는 별도로 표시되지 않는 한, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들면, 인간), 비인간 영장류 (예를 들면, 시노몰구스 원숭이) 및 설치류 (예를 들면, 생쥐와 쥐)를 비롯한, 임의의 척추동물 공급원으로부터 임의의 선천적 MAGE-A4를 지칭한다. 상기 용어는 "전장"의 처리되지 않은 MAGE-A4뿐만 아니라 세포에서 처리로부터 발생하는 MAGE-A4의 임의의 형태를 포괄한다. 상기 용어는 또한, MAGE-A4의 자연 발생 변이체, 예를 들면, 스플라이스 변이체 또는 대립형질 변이체를 포괄한다. 한 가지 양상에서, MAGE-A4는 인간 MAGE-A4, 특히 서열 번호: 57의 단백질이다.

[0208] "MAGE-A4 $_{p230-239}$" 또는 "p230-239 펩티드"는 아미노산 서열 GVYDGREHTV (서열 번호: 58; 서열 번호: 57의 MAGE-A4 단백질의 위치 230-239)를 갖는 MAGE-A4 유래된 펩티드인 것으로 의미된다.

[0209] "HLA-A2", "HLA-A*02", "HLA-A02", 또는 "HLA-A*2" (교체가능하게 이용됨)는 HLA-A 혈청형 군에서 인간 백혈구 항원 혈청형을 지칭한다. HLA-A2 단백질 (개별 HLA 유전자에 의해 인코딩됨)은 β2 마이크로글로불린 아단위를 더욱 포함하는, 개별 클래스 I MHC (주요 조직적합성 복합체) 단백질의 α 사슬을 구성한다. 특정한 HLA-A2 단백질은 HLA-A201 (HLA-A0201, HLA-A02.01, 또는 HLA-A*02:01로서 또한 지칭됨)이다. 특정한 양상에서, 본원에서 설명된 HLA-A2 단백질은 HLA-A201이다. 인간 HLA-A2의 예시적인 서열은 서열 번호: 59에서 제공된다.

[0210] "HLA-A2/MAGE-A4"는 HLA-A2 분자 및 MAGE-A4 유래된 펩티드 (본원에서 "MAGE-A4 펩티드"로서 또한 지칭됨), 특이적으로 p230-239 펩티드의 복합체 ("HLA-A2/MAGE-A4 $_{p230-239}$")를 지칭한다.

[0211] HLA-A2/MAGE-A4에 결합하는, 본원 발명에 유용한 T 세포 이중특이적 항체는 예를 들면, PCT 출원 번호 PCT/EP2020/086614 (본원에서 온전히 참조로서 편입됨)에서 설명된다.

[0212] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3에 결합하는 첫 번째 항원 결합 모이어티, 그리고 HLA-A2/MAGE-A4, 특히 HLA-A2/MAGE-A4 $_{p230-239}$에 결합하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함한다.

[0213] 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 37의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 38의 HCDR2 및 서열 번호: 39의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 40의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 41의 LCDR2 및 서열 번호: 42의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0214] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 45의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 46의 HCDR2 및 서열 번호: 47의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 48의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 49의 LCDR2 및 서열 번호: 50의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0215] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는

[0216] (i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 37의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 38의 HCDR2 및 서열 번호: 39의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 40의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 41의 LCDR2 및 서열 번호: 42의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티; 그리고

[0217] (ii) HLA-A2/MAGE-A4에 결합하고, 서열 번호: 45의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 46의 HCDR2 및 서열 번호: 47의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 48의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 49의 LCDR2 및 서열 번호: 50의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함한다.

[0218] 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 43의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 44의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 43의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 44의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0219] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 51의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 51의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 52의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0220] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 본원에서 설명된 바와 같이, HLA-A2/MAGE-A4에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티 및/또는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함한다.

[0221] 바람직한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는

[0222] (i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 37의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 38의 HCDR2 및 서열 번호: 39의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 40의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 41의 LCDR2 및 서열 번호: 42의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나, 특히 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고;

[0223] (ii) HLA-A2/MAGE-A4에 결합하고, 서열 번호: 45의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 46의 HCDR2 및 서열 번호: 47의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 48의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 49의 LCDR2 및 서열 번호: 50의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자, 특히 전통적인 Fab 분자이고;

[0224] (iii) 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하고,

[0225] 여기서 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 세 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합된다.

[0226] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (HLA-A2/MAGE-A4 및 CD3에 결합하는)의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고, 그리고 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되며, 그리고 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환되는 전통적인 Fab 분자이다.

[0227] 특히, 상기 양상에서, (ii) 하에 두 번째와 세 번째 Fab 분자의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K)에 의해 치환될 수 있고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K) 또는 아르기닌 (R)에 의해, 특히 아르기닌 (R)에 의해 치환될 수 있으며, 그리고 (ii) 하에 두 번째와 세 번째 Fab 분자의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환될 수 있고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환될 수 있다.

[0228] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (HLA-A2/MAGE-A4 및 CD3에 결합하는)의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 43의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 44의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 43의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열

번호: 44의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0229] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (HLA-A2/MAGE-A4 및 CD3에 결합하는)의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 51의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 52의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 51의 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 52의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0230] 상기 양상에 따른 Fc 도메인은 Fc 도메인과 관련하여 전술된 모든 특질을 단독적으로 또는 조합으로 통합할 수 있다.

[0231] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (HLA-A2/MAGE-A4 및 CD3에 결합하는)의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함하고, 및/또는 상기 Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0232] 일부 양상에서, 항원 결합 모이어티 및 Fc 영역은 펩티드 링커에 의해, 특히 서열 번호: 54 및 서열 번호: 56의 경우에서와 같은 펩티드 링커에 의해 서로 융합된다.

[0233] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (HLA-A2/MAGE-A4 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 53의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 54의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 55의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 56의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (HLA-A2/MAGE-A4 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 53의 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 54의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 55의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 56의 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0234] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원은 CD19이다.

[0235] "CD19"는 분화 클러스터 19 (B-림프구 항원 CD19 또는 B-림프구 표면 항원 B4로서 또한 알려져 있음)를 의미하고, 그리고 별도로 표시되지 않는 한, 포유동물, 예컨대 영장류 (예를 들면, 인간), 비인간 영장류 (예를 들면, 시노몰구스 원숭이) 및 설치류 (예를 들면, 생쥐와 쥐)를 비롯한, 임의의 척추동물 공급원으로부터 임의의 선천적 CD19를 지칭한다. 상기 용어는 "전장"의 처리되지 않은 CD19뿐만 아니라 세포에서 처리로부터 발생하는 CD19의 임의의 형태를 포괄한다. 상기 용어는 또한, CD19의 자연 발생 변이체, 예를 들면, 스플라이스 변이체 또는 대립형질 변이체를 포괄한다. 일부 양상에서, CD19는 인간 CD19이다. 상기 인간 단백질에 대해 UniProt (www.uniprot.org) 수탁 번호 P15391 (버전 211), 또는 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_001761.3을 참조한다. 인간 CD19의 예시적인 서열은 서열 번호: 60에서 제공된다.

[0236] CD19에 결합하는, 본원 발명에 유용한 T 세포 이중특이적 항체는 예를 들면, EP 출원 번호 20181056.1 및 20180968.8 (본원에서 온전히 참조로서 편입됨)에서 설명된다.

[0237] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 CD3에 결합하는 첫 번째 항원 결합 모이어티, 그리고 CD19에 결합하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함한다.

[0238] 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 61의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0239] 다른 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 64의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 65의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0240] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 67의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 68의 HCDR2 및 서열 번호: 69의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 70의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 71의 LCDR2 및 서열 번호: 72의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0241] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는

[0242] (i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 61의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 서열 번호: 64의 HCDR1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 65의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티; 그리고

[0243] (ii) CD19에 결합하고, 서열 번호: 67의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 68의 HCDR2 및 서열 번호: 69의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 70의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 71의 LCDR2 및 서열 번호: 72의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째 항원 결합 모이어티를 포함한다.

[0244] 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 63의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 또는 서열 번호: 66의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열, 그리고 서열 번호: 35의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 63의 중쇄 가변 영역 서열 또는 서열 번호: 66의 중쇄 가변 영역 서열, 그리고 서열 번호: 11의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0245] 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 73의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 74의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 두 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 73의 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 74의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0246] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는 본원에서 설명된 바와 같이, CD19에 결합하는 세 번째 항원 결합 모이어티 및/또는 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함한다.

[0247] 바람직한 양상에서, T 세포 이중특이적 항체는

[0248] (i) CD3에 결합하고, 서열 번호: 61의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 62의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역, 또는 서열 번호: 64의 HCDR1, 서열 번호: 5의 HCDR2 및 서열 번호: 65의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 7의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 8의 LCDR2 및 서열 번호: 9의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 첫 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 또는 불변 영역 중 어느 하나, 특히 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고;

[0249] (ii) CD19에 결합하고, 서열 번호: 67의 중쇄 CDR (HCDR) 1, 서열 번호: 68의 HCDR2 및 서열 번호: 69의 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역; 그리고 서열 번호: 70의 경쇄 CDR (LCDR) 1, 서열 번호: 71의 LCDR2 및 서열 번호: 72의 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티로서, 여기서 두 번째와 세 번째 항원 결합 모이어티는 각각 Fab 분자, 특히 전통적인 Fab 분자이고;

[0250] (iii) 첫 번째와 두 번째 아단위로 구성되는 Fc 도메인을 포함하고,

[0251] 여기서 두 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 첫 번째 항원 결합 모이어티의 Fab 중쇄의 N 말단에 융합되고, 그리고 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 첫 번째 아단위의 N 말단에 융합되고, 그리고 여기서 세 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 중쇄의 C 말단에서 Fc 도메인의 두 번째 아단위의 N 말단에 융합된다.

[0252] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD19 및 CD3에 결합하는)의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 Fab 경쇄 및 Fab 중쇄의 가변 영역이 교환되는 교차 Fab 분자이고, 그리고 여기서 T 세포 이중특이적 항체의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K), 아르기닌 (R) 또는 히스티딘 (H)에 의해 독립적으로 치환되며, 그리고 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환되고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E) 또는 아스파르트산 (D)에 의해 독립적으로 치환되는 전통적인 Fab 분자이다.

[0253] 특히, 상기 양상에서, (ii) 하에 두 번째와 세 번째 Fab 분자의 불변 도메인 CL 내에 위치 124에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K)에 의해 치환될 수 있고 위치 123에서 아미노산 (Kabat에 따른 넘버링)이 리신 (K) 또는 아르기닌 (R)에 의해, 특히 아르기닌 (R)에 의해 치환될 수 있으며, 그리고 (ii) 하에 두 번째와

세 번째 Fab 분자의 불변 도메인 CH1 내에 위치 147에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환될 수 있고 위치 213에서 아미노산 (Kabat EU 색인에 따른 넘버링)이 글루타민산 (E)에 의해 치환될 수 있다.

[0254] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD19 및 CD3에 결합하는)의 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 63의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 또는 서열 번호: 66의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열, 그리고 서열 번호: 11의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 첫 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 63의 중쇄 가변 영역 서열 또는 서열 번호: 66의 중쇄 가변 영역 서열, 그리고 서열 번호: 11의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다.

[0255] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD19 및 CD3에 결합하는)의 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 73의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 중쇄 가변 영역 서열 및 서열 번호: 74의 아미노산 서열과 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 일부 양상에서, 두 번째 및 (존재하는 경우에) 세 번째 항원 결합 모이어티는 서열 번호: 73의 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 74의 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0256] 상기 양상에 따른 Fc 도메인은 Fc 도메인과 관련하여 전술된 모든 특질을 단독적으로 또는 조합으로 통합할 수 있다.

[0257] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD19 및 CD3에 결합하는)의 Fc 도메인은 Fc 도메인의 첫 번째와 두 번째 아단위의 연결을 증진하는 변형을 포함하고, 및/또는 상기 Fc 도메인은 Fc 수용체에 결합 및/또는 효과기 기능을 감소시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0258] 일부 양상에서, 항원 결합 모이어티 및 Fc 영역은 펩티드 링커에 의해, 특히 서열 번호: 75, 서열 번호: 76 및 서열 번호: 77의 경우에서와 같은 펩티드 링커에 의해 서로 융합된다.

[0259] 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD19 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 78의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 75의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 77의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 79의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD19 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 78의 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 75의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 77의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 79의 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0260] 다른 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD19 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 78의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 76의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 77의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 80의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 양상에서, T 세포 이중특이적 항체 (CD19 및 CD3에 결합하는)는 서열 번호: 78의 서열을 포함하는 폴리펩티드 (특히 2개의 폴리펩티드), 서열 번호: 76의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 서열 번호: 77의 서열을 포함하는 폴리펩티드, 그리고 서열 번호: 80의 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다.

[0261] 일부 양상에서, (T 세포 관여제에 의해 치료되는) 질환은 암이다.

[0262] 본원에서 이용된 바와 같이, "치료" (및 이의 문법적 변이, 예컨대 "치료한다" 또는 "치료하는")는 치료되는 개체에서 질환의 자연 경과를 변경하려는 시도에서 임상적 개입을 지칭하고, 그리고 임상 병리의 예방을 위해 또는 임상 병리의 경과 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 축소, 전이 예방, 질환 진행의 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 그리고 관해 또는 향상된 예후를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0263] 용어 "암"은 전형적으로, 조절되지 않는 세포 증식에 의해 특징화되는, 포유동물에서 생리학적 상태를 지칭한다. 암의 실례는 암종, 림프종, 모세포종, 육종 및 백혈병을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 암의 더 많은 무제한적 실례는 혈액암 예컨대 백혈병, 방광암, 뇌암, 두경부암, 췌장암, 담도암, 갑상선암, 폐암, 유방암, 난소암, 자궁암, 자궁경부암, 자궁내막암, 식도암, 결장암, 결장직장암, 직장암, 위암, 전립선암,

피부암, 편평상피 세포 암종, 육종, 골암, 그리고 신장암을 포함한다. 다른 세포 증식 장애는 복부, 뼈, 유방, 소화계, 간, 췌장, 복막, 내분비선 (부신, 부갑상선, 뇌하수체, 고환, 난소, 흉선, 갑상선), 눈, 두경부, 신경계 (중추와 말초), 림프계, 골반, 피부, 연조직, 비장, 흉부 영역, 그리고 비뇨생식기계에서 위치된 신생물을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 전암성 상태 또는 병변 및 암 전이 또한 포함된다.

[0264] 일부 양상에서, 암은 T 세포 관여제 (예를 들면 T 세포 이중특이적 항체)의 표적 세포 항원을 발현하는 암이다.

[0265] 일부 양상에서, 암은 암배아 항원 (CEA) 발현 암 (특히 T 세포 관여제, 예를 들면 T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원이 CEA인 양상에서)이다. "CEA 양성 암" 또는 "CEA 발현 암"은 암 세포에서 CEA의 발현 또는 과다발현에 의해 특징화되는 암인 것으로 의미된다. CEA의 발현은 예를 들면 면역조직화학 (IHC) 또는 유세포 계측검정에 의해 결정될 수 있다. 일부 양상에서, 암은 CEA를 발현한다. 일부 양상에서, 암은 CEA에 대해 특이적인 항체를 이용한 면역조직화학 (IHC)에 의해 결정된 대로, 종양 세포 중 적어도 20%, 바람직하게는 적어도 50% 또는 적어도 80%에서 CEA를 발현한다.

[0266] 일부 양상에서, 암은 결장암, 폐암, 난소암, 위암, 방광암, 췌장암, 자궁내막암, 유방암, 신장암, 식도암, 전립선암, 또는 본원에서 설명된 다른 암이다.

[0267] 특정한 양상에서, 암은 결장직장암, 폐암, 췌장암, 유방암 및 위암으로 구성된 군에서 선택되는 암이다. 바람직한 양상에서, 암은 결장직장암 (CRC)이다. 일부 양상에서, 결장직장암은 전이성 결장직장암 (mCRC)이다. 일부 양상에서, 결장직장암은 현미부수체 안정성 (MSS) 결장직장암이다. 일부 양상에서, 결장직장암은 현미부수체 안전성 전이성 결장직장암 (MSS mCRC)이다.

[0268] 일부 양상에서, 암은 CD20 발현 암 (특히 T 세포 관여제, 예를 들면 T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원이 CD20인 양상에서)이다. "CD20 양성 암" 또는 "CD20 발현 암"은 암 세포에서 CD20의 발현 또는 과다발현에 의해 특징화되는 암인 것으로 의미된다. CD20의 발현은 예를 들면 정량적 실시간 PCR (CD20 mRNA 수준을 계측), 유세포분석, 면역조직화학 (IHC) 또는 웨스턴 블롯 검정에 의해 결정될 수 있다. 일부 양상에서, 암은 CD20을 발현한다. 일부 양상에서, 암은 CD20에 대해 특이적인 항체를 이용한 면역조직화학 (IHC)에 의해 결정된 대로, 종양 세포 중 적어도 20%, 바람직하게는 적어도 50% 또는 적어도 80%에서 CD20를 발현한다.

[0269] 일부 양상에서, 암은 B 세포 암, 특히 CD20 양성 B 세포 암이다. 일부 양상에서, 암은 비호지킨 림프종 (NHL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 미만성 큰 B 세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종 (FL), 외투 세포 림프종 (MCL), 변연대 림프종 (MZL), 다발성 골수종 (MM) 또는 호지킨 림프종 (HL)으로 구성된 군에서 선택된다. 특정한 양상에서, 암은 비호지킨 림프종 (NHL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 미만성 큰 B 세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종 (FL), 외투 세포 림프종 (MCL) 및 변연대 림프종 (MZL)으로 구성된 군에서 선택된다. 더 특정한 양상에서, 암은 NHL, 특히 재발성/불응성 (r/r) NHL이다. 일부 양상에서, 암은 DLBCL이다. 일부 양상에서, 암은 FL이다. 일부 양상에서, 암은 MCL이다. 일부 양상에서, 암은 MZL이다.

[0270] 일부 양상에서, 암은 MAGE-A4 발현 암 (특히 T 세포 관여제, 예를 들면 T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원이 HLA-A2/MAGE-A4인 양상에서)이다. "MAGE-A4 양성 암" 또는 "MAGE-A4 발현 암"은 암 세포에서 MAGE-A4의 발현 또는 과다발현에 의해 특징화되는 암인 것으로 의미된다.

[0271] 일부 양상에서, 암은 폐암, 두경부암, 방광암, 식도암, 피부암, 위암 및 난소암으로 구성된 군에서 선택되는 암이다.

[0272] 일부 양상에서, 암은 CD19 발현 암 (특히 T 세포 관여제, 예를 들면 T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원이 CD19인 양상에서)이다. "CD19 양성 암" 또는 "CD19 발현 암"은 암 세포에서 CD19의 발현 또는 과다발현에 의해 특징화되는 암인 것으로 의미된다. CD19의 발현은 예를 들면 정량적 실시간 PCR (CD19 mRNA 수준을 계측), 유세포분석, 면역조직화학 (IHC) 또는 웨스턴 블롯 검정에 의해 결정될 수 있다. 일부 양상에서, 암은 CD19를 발현한다. 일부 양상에서, 암은 CD19에 대해 특이적인 항체를 이용한 면역조직화학 (IHC)에 의해 결정된 대로, 종양 세포 중 적어도 20%, 바람직하게는 적어도 50% 또는 적어도 80%에서 CD19를 발현한다.

[0273] 일부 양상에서, 암은 B 세포 암, 특히 CD19 양성 B 세포 암이다. 일부 양상에서, 암은 B 세포 림프종 또는 B 세포 백혈병이다. 일부 양상에서, 암은 비호지킨 림프종 (NHL), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 또는 만성 림프성 백혈병 (CLL)이다.

[0274] 일부 양상에서, 암은 T 세포 관여제에 의해 치료 가능하다. 일부 양상에서, T 세포 관여제는 암의 치료용으로

처방된다.

[0275] 일부 양상에서, 암은 고형 종양 암이다. "고형 종양 암"은 환자의 신체 내에 특정한 위치에서 위치된 별개의 종양 덩어리 (종양 전이 역시 포함)를 형성하는 악성종양, 예컨대 육종 또는 암종 (예를 들면, 고형 종양을 일반적으로 형성하지 않는 혈액암 예컨대 백혈병과는 대조적으로)인 것으로 의미된다. 고형 종양 암의 무제한적 실례는 방광암, 뇌암, 두경부암, 췌장암, 폐암, 유방암, 난소암, 자궁암, 자궁경부암, 자궁내막암, 식도암, 결장암, 결장직장암, 직장암, 위암, 전립선암, 피부암, 편평상피 세포 암종, 골암, 간암 및 신장암을 포함한다. 본원 발명의 맥락에서 예기되는 다른 고형 종양 암은 복부, 뼈, 유방, 소화계, 간, 췌장, 복막, 내분비선 (부신, 부갑상선, 뇌하수체, 고환, 난소, 흉선, 갑상선), 눈, 두경부, 신경계 (중추와 말초), 림프계, 골반, 피부, 연조직, 근육, 비장, 흉부 영역, 그리고 비뇨생식기계에서 위치된 신생물을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 전암성 상태 또는 병변 및 암 전이 또한 포함된다.

[0276] T 세포 관여제, 예를 들면 T 세포 이중특이적 항체의 표적 세포 항원이 CD19인 일부 양상에서, 질환 (T 세포 이중특이적 항체에 의해 치료되는)은 자가면역 질환이다. 특정한 양상에서, 자가면역 질환은 루푸스, 특히 전신성 홍반성 루푸스 (SLE) 또는 루푸스 신장염 (LN)이다.

[0277] 본원에서 "개체" 또는 "피험자"는 포유동물이다. 포유동물은 순치된 동물 (예를 들면, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류 (예를 들면, 인간 및 비인간 영장류, 예컨대 원숭이), 토끼, 그리고 설치류 (예를 들면, 생쥐와 쥐)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 양상에서, 개체 또는 피험자는 인간이다. 일부 양상에서, 개체는 질환, 특히 T 세포 관여제에 의해 치료 가능하거나 또는 치료되는 질환을 겪는다. 일부 양상에서, 개체는 암, 특히 T 세포 관여제에 의해 치료 가능하거나 또는 치료되는 암을 겪는다. 특히, 본원에서 개체는 암의 한 가지 이상의 징후, 증상, 또는 다른 지표를 경험하고 있거나 또는 경험한, 치료에 적격인 임의의 단일 인간 개체이다. 일부 양상에서, 개체는 암을 겪고 있거나, 또는 암, 특히 전술된 임의의 암으로 진단되었다. 일부 양상에서, 개체는 국소 진행성 또는 전이성 암을 겪고 있거나, 또는 국소 진행성 또는 전이성 암으로 진단되었다. 개체는 T 세포 관여제 (예를 들면 T 세포 이중특이적 항체) 또는 다른 약물로 이전에 치료되거나, 또는 그렇게 치료되지 않을 수 있었다. 특정한 양상에서, 환자는 T 세포 관여제 (예를 들면 T 세포 이중특이적 항체)로 이전에 치료되지 않았다. 환자는 T 세포 관여제 요법이 시작되기 전, T 세포 관여제 이외에 (예를 들면 T 세포 이중특이적 항체 이외에) 한 가지 이상의 약물을 포함하는 요법으로 치료될 수 있었다.

[0278] 일부 양상에서, 개체는 하나 이상의 사이토킨의 상승된 혈청 수준을 갖는다. 일부 양상에서, 상기 상승된 혈청 수준은 개체에게 T 세포 관여제의 투여에 관련된다. 상기 상승된 혈청 수준은 특히 건강한 개체에서 혈청 수준 및/또는 T 세포 관여제의 투여가 없는 개체 (동일한 개체 포함)에서 혈청 수준과 비교된다 (다시 말하면 이런 사례에서 혈청 수준은 T 세포 관여제의 투여가 없는 혈청 수준과 비교하여 상승된다). 일부 양상에서, 상기 하나 이상의 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α, GM-CSF, MCP-1 및 IL-1β로 구성된 군에서 선택된다.

[0279] 본원 발명의 임의의 양상에 따른 사이토킨은 인터류킨 (IL)-6, 인터페론 (IFN)-γ, IL-10, 종양 괴사 인자 (TNF)-α, 과립구 대식세포 집락 자극 인자 (GM-CSF), 단핵구 화학유인물질 단백질 (MCP)-1, IL-1β, IL-8, IL-4 및 IL-2로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨일 수 있다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α, GM-CSF, MCP-1 및 IL-1β로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10, TNF-α 및 GM-CSF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-6, IFN-γ, IL-10 및 TNF-α로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-6, IFN-γ 및 IL-10로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 사이토킨이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-6이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IFN-γ이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-10이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 TNF-α이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 GM-CSF이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 MCP-1이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-1β이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-8이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-4이다. 일부 양상에서, 사이토킨은 IL-2이다.

[0280] 바람직하게는, 본원 발명의 임의의 양상에 따른 T 세포는 세포독성 T 세포이다. 일부 양상에서, T 세포는 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ T 세포이다. 일부 양상에서, T 세포는 $CD8^+$ T 세포이다. 일부 양상에서, T 세포는 $CD4^+$ T 세포이다.

[0281] 일부 양상에서, T 세포 관여제를 이용한 치료 또는 이것의 투여는 개체에서 반응을 야기할 수 있다. 일부 양상에서, 반응은 완전 반응일 수 있다. 일부 양상에서, 반응은 완전 반응일 수 있다. 일부 양상에서, 반응은 치료의 중단 후 지속된 반응일 수 있다. 일부 양상에서, 반응은 치료의 중단 후 지속되는 완전 반응일 수 있다. 다른 양상에서, 반응은 부분 반응일 수 있다. 일부 양상에서, 반응은 치료의 중단 후 지속되는 부분 반응일 수 있

다. 일부 양상에서, T 세포 관여제 및 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제를 이용한 치료 또는 이들의 투여는 T 세포 관여제 단독 (다시 말하면 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 없이)을 이용한 치료 또는 이것의 투여와 비교하여 반응을 향상시킬 수 있다. 일부 양상에서, T 세포 관여제 및 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제의 치료 또는 투여는 T 세포 관여제 단독 (다시 말하면 JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제 없이)으로 치료된 상응하는 환자 모집단과 비교하여, 환자 모집단에서 반응률을 증가시킬 수 있다.

[0282] T 세포 관여제는 치료 중에 단독으로 또는 다른 작용제와 함께 이용될 수 있다. 예를 들면, T 세포 관여제는 적어도 한 가지 추가 치료제와 병용 투여될 수 있다. 일정한 양상에서, 추가 치료제는 항암제, 예를 들면 화학요법제, 종양 세포 증식의 저해제, 또는 종양 세포 아폽토시스의 활성인자이다.

[0283] JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 단독으로, 또는 T 세포 관여제의 투여에 관련된 부정적인 효과, 특히 CRS의 예방 또는 완화를 위한 한 가지 이상의 다른 작용제와 함께 이용될 수 있다. JAK 및/또는 mTOR 신호전달의 저해제는 예를 들면 IL-6R 길항제 (예를 들면 토실리주맙), 스테로이드 (예를 들면 코르티코스테로이드 예컨대 메틸프레드니솔론 또는 덱사메타손), 또는 TNF-α 길항제 (예를 들면 에타네르셉트)와 함께 이용될 수 있다.

[0284] **아미노산 서열**

	서열	서열 번호
인간 CD3	MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGD EDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDI CITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRI	1
시노몰구스 CD3	MQSGTRWRVLGLCLLSIGVWGQDGNEEMGSITQTPYQVSISGTTVILTCSQHLGSEAQWQHNGKNKEDS GDRLFLPEFSEMEQSGYYVCYPRGSNPEDASHHLYLKARVCENCMEMDVMAVATIVIVDICITLGLLLL VYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQQDLYSGLNQRRI	2
hIgG1 Fc 영역	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP	3
CD3 HCDR1	TYAMN	4
CD3 HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	5
CD3 HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	6
CD3 LCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	7
CD3 LCDR2	GTNKRAP	8
CD3 LCDR3	ALWYSNLWV	9
CD3 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	10
CD3 VL	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLL GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	11
CEA HCDR1	EPGMN	12
CEA HCDR2	WINTKTGEATYVEEFKG	13
CEA HCDR3	WDFAYYVEAMDY	14
CEA LCDR1	KASAAVGTYVA	15
CEA LCDR2	SASYRKR	16
CEA LCDR3	HQYYTYPLFT	17
CEA VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEPGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVT FTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSS	18
CEA VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCHQYYTYPLFTPGQGTKLEIK	19
CEA VL-CL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCHQYYTYPLFTPGQGTKLEIKRTVAAPSVFIPPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	20

[0285]

CEA VH-CH1-Fc(홀, PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEPGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVT FTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	21
CD3 VL-CH1	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLL GGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSC	22
CEA VH-CH1-CD3 VH-CL-Fc(노브, PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEPGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEPKGRVT FTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAP GKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVS WFAYWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	23
CD20 HCDR1	YSWIN	24
CD20 HCDR2	RIFPGDGDTDYNGKFKG	25
CD20 HCDR3	NVFDGYVLVY	26
CD20 LCDR1	RSSKSLLHSNGITYLY	27
CD20 LCDR2	QMSNLVS	28
CD20 LCDR3	AQNLELPYT	29
CD20 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSS	30
CD20 VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIK	31
CD20 VL-CL(RK)	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTPGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC	32

[0286]

CD20 VH-CH1(EE)-Fc (홀, PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK PNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQP REPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	33
CD3 VH-CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	34
CD20 VH-CH1(EE)-CD3 VL-CH1-Fc(노브, PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPG QAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	35
인간 CD20	MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPIAMQSGPKPLFRRMSSLVGPTQSFFMRESKTLGAVQIMNGLFHIALGGL LMIPAGIYAPICVTVWYPLWGGIMYIISGSLLAATEKNSRKCLVKGKMIMNSLSLFAAISGMILSIMDI LNIKISHFLKMESLNFIRAHTPYINIYNCEPANPSEKNSPSTQYCYSIQSLFLGILSVMLIFAFFQELV IAGIVENEWKRTCSRPKSNIVLLSAEEKEQTIEIKEEVVGLTETSSQPKNEEDIEIIPIQEEEEEETE TNFPEPPQDQESSPIENDSSP	36
CD3 HCDR1	GYTMN	37
CD3 HCDR2	LINPYKGVSTYNQKFKD	38
CD3 HCDR3	SGYYGDSDWYFDV	39
CD3 LCDR1	RASQDIRNYLN	40
CD3 LCDR2	YTSRLES	41
CD3 LCDR3	QQGNTLPWT	42
CD3 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFT ISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSS	43
CD3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGT DYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK	44
MAGE-A4 HCDR1	KAMS	45
MAGE-A4 HCDR2	SISPSGGSTYYNDNVLG	46

[0287]

MAGE-A4 HCDR3	DVGPFDE	47
MAGE-A4 LCDR1	RASQSISSYLA	48
MAGE-A4 LCDR2	DASIRDI	49
MAGE-A4 LCDR3	QQYSSYPYT	50
MAGE-A4 VH	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFKAMSWVRQAPGKGLEWVGSISPSGGSTYYNDNVLGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDVGPFDEWGQGTLVTVSS	51
MAGE-A4 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASIRDIGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSYPYTFGQGTKLEIK	52
MAGE-A4 VL-CL(RK)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASIRDIGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC	53
MAGE-A4 VH-CH1(BE)-Fc(홀, PGLALA)	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFKAMSWVRQAPGKGLEWVGSISPSGGSTYYNDNVLGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDVGPFDEWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	54
CD3 VH-CL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFT ISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	55
MAGE-A4 VH-CH1(BE)-CD3 VL-CH1-Fc(노브, PGLALA)	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFKAMSWVRQAPGKGLEWVGSISPSGGSTYYNDNVLGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDVGPFDEWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLI YYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	56
인간 MAGE-A4	MSSEQKSQHCKPEEGVEAQEEALGLVGAQAPTTEEQEAAVSSSSPLVPGTLEEVPAAESAGPPQSPQGA SALPTTISFTCWRQPNEGSSSQEEEGPSTSPDAESLFREALSNKVDELAHFLLRKYRAKELVTKAEMLE RVIKNYKRCFPVIFGKASESLKMIFGIDVKEVDPASNTYTLVTCLGLSYDGLLGNNQIFPKTGLLIIVL GTIAMEGDSASEEEIWEELGVMGVYDGREHTVYGEPRKLLTQDWVQENYLEYRQVPGSNPARYEFLWGP RALAETSYVKVLEHVVRVNARVRIAYPSLREAALLEEEEGV	57
p230-239 펩티드	GVYDGREHTV	58

[0288]

HLA-A2	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKA HSQTHRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADM AAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALS FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	59
인간 CD19	MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSLGLP GLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKN RSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSV SRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLTMSFHLEITA RPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQ NQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEGEGYEEPDS EEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSGYENPDEDPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHG SAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGT WSTR	60
CD3 HCDR1	SYAMN	61
CD3 HCDR3	HTTPPSSYVSYYGY	62
CD3 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFQFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHTTPPSSYVSYYGYWGQGTLVTVSS	63
CD3 HCDR1	SYAMN	64
CD3 HCDR3	ASNPPASYVSYPAY	65
CD3 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRASNPPASYVSYPAYWGQGTLVTVSS	66
CD19 HCDR1	DYIMH	67
CD19 HCDR2	YINPYNDGSKYTEKFQG	68
CD19 HCDR3	GTYYYGPQLFDY	69
CD19 LCDR1	KSSQSLETSTGTTYLN	70
CD19 LCDR2	RVSKRFS	71
CD19 LCDR3	LQLLEDPYT	72
CD19 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVT MTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSS	73
CD19 VL	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLLEDPYTFGQGTKLEIK	74

[0289]

CD19 VH-CH1(EE) - CD3 VL-CH1 - Fc (노브, PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVT MTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	75
CD19 VH-CH1(EE) - CD3 VL-CH1 - Fc (노브, PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVT MTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEK PGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	76
CD19 VH-CH1(EE) -Fc (홀, PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVT MTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	77
CD19 VL-CL(RK)	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLLEDPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC	78
CD3 VH-CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFQFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHTTPPSSYVSYYGYWGQGTLVTVSSASTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	79
CD3 VH-CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRASNFPASYVSYPAYWGQGTLVTVSSASTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	80

[0290]

도면의 간단한 설명

[0291] **도 1.** 검정 설정. MKN45 NucLightRed (NLR) 표적 세포가 10 nM CEA-TCB, mTOR 또는 JAK 저해제 및 말초혈 단핵 세포 (PBMC)와 공동배양되었다, E:T = 50,000개 PBMC : 5,000개 표적 세포. 표적 세포 사멸의 동역학이 Incucyte® 시스템 (3 시간마다 1회 스캔, 10 x 확대, 상 및 적색 400 ms 획득 시간)을 이용하여 추적되었다.

도 2. 도 1에서 설명된 검정에서 0 nM 내지 1000 nM 범위의 시로리무스 (A), 에베로리무스 (B) 및 테미시로리무스 (C) 농도의 존재에서 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 세포의 실시간 사멸. 사멸%가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + mTOR 저해제 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 + SEM.

도 3. 도 1에서 설명된 검정에서 72 시간 시점에 계측된 TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 확대 농도의 시로리무스 (A), 에베로리무스 (B) 및 템시로리무스 (C)의 효과. 72 시간 시점에 사멸%가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + mTOR 저해제 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 +/- SD.

도 4. 도 1에서 설명된 검정에서 72 시간 시점에 PBMC 생존력에 대한 확대 농도의 에베로리무스 (A), 시로리무스 (B) 및 템시로리무스 (C)의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 PBMC의 생존력이 Live/Dead™ Fixable Aqua Dead Cell 염색제를 이용한 유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 5. 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB로 처리 후 72 시간 시점에 CD4+ (A) 및 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현에 대한, 그리고 CD4+ (B) 및 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한 확대 농도의 에베로리무스의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 72 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 6. 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB로 처리 후 72 시간 시점에 CD4+ (A) 및 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현에 대한, 그리고 CD4+ (B) 및 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한 확대 농도의 시로리무스의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 72 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 7. 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB로 처리 후 72 시간 시점에 CD4+ (A) 및 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현에 대한, 그리고 CD4+ (B) 및 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한 확대 농도의 템시로리무스의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 72 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 8. 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB로 처리 후 72 시간 시점에 계측된, 사이토킨 방출 (IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), IL-6 (D), GM-CSF (E), IL-8 (F), IL-4 (G), IL-10 (H), MCP-1 (I))에 대한 확대 농도의 시로리무스, 에베로리무스 및 템시로리무스의 효과. 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 9. (A) 도 1의 검정에서 0 nM 내지 100 nM 범위의 룩소리티닙 농도의 존재에서 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 세포의 실시간 사멸. (B) 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB로 처리 후 69 시간 시점에 계측된, 표적 세포 사멸에 대한 확대 농도의 룩소리티닙의 효과. 사멸%가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + 룩소리티닙 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자 (A)에 대한 기술적 복제물의 평균 + SEM. n=3개의 공여자의 평균 +/-SD.

도 10. 도 1의 검정에서 69 시간 시점에 PBMC 생존력에 대한 확대 농도의 룩소리티닙의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 PBMC의 생존력이 Live/Dead™ Fixable Aqua Dead Cell 염색제를 이용한 유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 11. 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB로 처리 후 69 시간 시점에 CD8+ (A) 및 CD4+ (B) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한, 그리고 CD8+ (C) 및 CD4+ (D) T 세포 상에서 CD69 발현에 대한 확대 농도의 룩소리티닙의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 69 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 12. 도 1의 검정에서 69 시간 시점에 10 nM CEA-TCB에 의해 유도된, 사이토킨 방출 (IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), IL-6 (D), GM-CSF (E), IL-8 (F), IL-4 (G), IL-10 (H), MCP-1 (I))에 대한 확대 농도의 룩소리티닙의 효과. 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 69 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 13. 시험관내 사멸 검정 설정. Cell Trace™ Violet (CTV) 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포가 PBMC [E:T=200,000:20,000], CD20-TCB와 함께, 그리고 0 nM 내지 1000 nM 범위의 확대 용량의 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 존재에서 공동배양되었다.

도 14. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서, CTV WSU DLCL2 종양 세포 사멸에 대한 확대 농도의 룩소리티닙 (A), 템시로리무스 (B), 시로리무스 (C) 및 에베로리무스 (D)의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아지고, 그리고 유세포분석에 의해, 죽은 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포의 배제를 가능하게 하기 위해 LIVE/DEAD™ Near-IR dead cell 염료로 염색되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 15. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서 CD4+ (B) 및 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한, 그리고 CD4+ (A) 및 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현에 대한 확대 농도의 템시로리무스의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 16. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서 CD4+ (B) 및 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한, 그리고 CD4+ (A) 및 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현에 대한 확대 농도의 템시로리무스의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 17. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서 CD4+ (B) 및 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한, 그리고 CD4+ (A) 및 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현에 대한 확대 농도의 시로리무스의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 18. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서 CD4+ (B) 및 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한, 그리고 CD4+ (A) 및 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현에 대한 확대 농도의 시로리무스의 효과. 24 시간 시점에, 기

술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 19. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D) 및 IL-6 (E) 방출에 대한 확대 농도의 룩소리티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 20. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D) 및 IL-6 (E) 방출에 대한 확대 농도의 템시로리무스의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 21. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D) 및 IL-6 (E) 방출에 대한 확대 농도의 시로리무스의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 22. 1 nM CD20-TCB에 대한 도 13의 검정에서 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D) 및 IL-6 (E) 방출에 대한 확대 농도의 에베로리무스의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 23. 도 1의 검정에서 5 μg/mL 항-TNF-α 항체 (aTNF-α; Biolegend #502922 (항체 Mab11)), 5 μg/mL 항-IL-6R 항체 (aIL-6R; Roche 인하우스), 1 μM 덱사메타손 (dexa), 0.1 μM 덱사메타손, 50 nM 다사티닙 (dasa), 50 nM 룩소리티닙 (ruxo), 50 nM 템시로리무스 (temsi), 40 nM 시로리무스 (siro), 50 nM 에베로리무스 (evero)의 존재에서 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 세포의 실시간 사멸. 사멸%가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + 상응하는 화합물 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 + SD.

도 24. 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB에 의해 유도된, CD4+ T 세포 상에서 CD69 (A) 및 CD25 (B) 발현에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 66 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/-SD

도 25. 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB에 의해 유도된, CD8+ T 세포 상에서 CD69 (A) 및 CD25 (B) 발현에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 66 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 26. 도 1의 검정에서 10 nM CEA-TCB에 의해 유도된 사이토킨 방출 (IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), IL-4 (D), IL-8 (E), IL-10 (F), GM-CSF (G), MCP-1 (H))에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 66 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 27. CD20-TCB 유발 B 세포 사멸에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. WSU 표적 세포가 PBMC (E:T = 200,000:20,000), 확대 CD20-TCB 농도 및 상응하는 화합물과 공동배양되었다. 기술적 복제물이 24 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 CD19+ B 세포가 유세포분석에 의해 계측되었다. 죽은 B 세포는 Live/Dead™ Fixable Aqua Dead Cell 염색제를 이용하여 CD19+ B 세포로부터 배제되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 28. CD20-TCB 유발 B 세포 사멸에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. WSU 표적 세포가 PBMC (E:T = 200,000:20,000), 1 nM CD20-TCB 및 상응하는 화합물과 공동배양되었다. 기술적 복제물이 24 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 CD19+ B 세포가 유세포분석에 의해 계측되었다. 죽은 B 세포는 Live/Dead™ Fixable Aqua Dead Cell 염색제를 이용하여 CD19+ B 세포로부터 배제되었다.

n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 29. CD20-TCB 유발 T 세포 활성화에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. WSU 표적 세포가 PBMC (E:T = 200,000:20,000), 확대 CD20-TCB 농도 및 상응하는 화합물과 공동배양되었다. 기술적 복제물이 24 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ (A)와 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 및 CD4+ (B)와 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 30. CD4+ T 세포 상에서 CD69 (A) 및 CD25 (B) 발현에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. WSU 표적 세포가 PBMC (E:T = 200,000:20,000), 1 nM CD20-TCB 및 상응하는 화합물과 공동배양되었다. 기술적 복제물이 24 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 31. CD8+ T 세포 상에서 CD69 (A) 및 CD25 (B) 발현에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. WSU 표적 세포가 PBMC (E:T = 200,000:20,000), 1 nM CD20-TCB 및 상응하는 화합물과 공동배양되었다. 기술적 복제물이 24 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 32. CD20-TCB 유발 사이토킨 방출 (TNF-α (A), IFN-γ (B), IL-2 (C), IL-1β (D), IL-6 (E), IL-4 (F), IL-10 (G), GM-CSF (H))에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. WSU 표적 세포가 PBMC (E:T = 200,000:20,000), 확대 CD20-TCB 농도 및 상응하는 화합물과 공동배양되었다. 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 24 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 33. CD20-TCB 유발 사이토킨 방출 (TNF-α (A), IFN-γ (B), IL-2 (C), IL-1β (D), IL-6 (E), IL-4 (F), IL-10 (G), GM-CSF (H))에 대한 항-TNF-α 항체 (aTNF-α), 항-IL-6R 항체 (aIL-6R), 덱사메타손 (dexa), 다사티닙 (dasa), 룩소리티닙 (ruxo), 템시로리무스 (temsi), 시로리무스 (siro), 에베로리무스 (evero)의 효과. WSU 표적 세포가 PBMC (E:T = 200,000:20,000), 1 nM CD20-TCB 및 상응하는 화합물과 공동배양되었다. 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 24 시간 시점에 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 34. 시험관내 사멸 검정 설정. Cell Trace™ Violet (CTV) 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포가 PBMC [E:T=200,000:20,000]와 함께 공동배양되고 18 시간 동안 CD20-TCB로 자극되었다. 18 시간 시점에, 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 템시로리무스, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 에베로리무스가 상기 시스템에 추가되었다.

도 35. 3명의 대표적인 공여자 (D1-D3)에 대한 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 전 도 34의 검정에서 18 시간 시점에 CTV 표지화된 WSU DLCL2 표적 세포 사멸. 18 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아지고, 그리고 유세포분석에 의해, 죽은 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포의 배제를 가능하게 하기 위해 LIVE/DEAD™ Near-IR dead cell 염료로 염색되었다.

도 36. 3명의 대표적인 공여자 (D1-D3)에 대한 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 전 도 34의 검정에서 18 시간 시점에 CD8+ (A) 및 CD4+ (B) T 세포 상에서 CD25 발현. 18 시간 시점에, 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다.

도 37. 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 후 도 34의 검정에서 44 시간 시점에 CTV 표지화된 WSU DLCL2 표적 세포 사멸. 44 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아지고, 그리고 유세포분석에 의해, 죽은 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포의 배제를 가능하게 하기 위해 LIVE/DEAD™ Near-IR dead cell 염료로 염색되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 38. 도 34의 검정에서 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 후 CD4+ (B)와 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25의 발현 및 CD4+ (A)와 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현. 44 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이

유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 39. 도 34의 검정에서 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 전 (18 시간) 및 추가 후 (44 시간), IL-2 (A), IFN-γ (B), TNF-α (C), IL-6 (D), IL-1β (E), GM-CSF (F) 수준. 18 시간 및 44 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 40. 도 34의 검정에서 1 nM CD20-TCB에 대한 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 전 (18 시간) 및 추가 후 (44 시간), CTV 표지화된 WSU DLCL2 표적 세포 사멸. 18 시간 및 44 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아지고, 그리고 유세포분석에 의해, 죽은 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포의 배제를 가능하게 하기 위해 LIVE/DEAD™ Near-IR dead cell 염료로 염색되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 41. 도 34의 검정에서 1 nM CD20-TCB에 대한 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 전 (18 시간) 및 추가 후 (44 시간), CD4+ T 세포 상에서 CD69 (A) 및 CD25 (B)의 발현. 18 시간 및 44 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 42. 도 34의 검정에서 1 nM CD20-TCB에 대한 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 전 (18 시간) 및 추가 후 (44 시간), CD8+ T 세포 상에서 CD69 (A) 및 CD25 (B)의 발현. 18 시간 및 44 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아졌고, 그리고 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 43. 도 34의 검정에서 1 nM CD20-TCB에 대한 룩소리티닙, 템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스의 추가 전 (18 시간) 및 추가 후 (44 시간), IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), IL-6 (D) 및 IL-1β (E) 수준. 18 시간 및 44 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 44. 0 nM 내지 1000 nM 범위의 확대 농도의 룩소리티닙의 존재에서 8 nM MAGEA4-TCB에 의한 A375 NucLightRed (NLR) 세포의 실시간 사멸. A375 NLR 표적 세포가 MAGEA4-TCB (8 nM), 룩소리티닙 및 PBMC, E:T = 50,000개의 PBMC: 5000개의 표적 세포와 공동배양되었다. 사멸이 Incucyte® (3 시간마다 1회 스캔, 10 x 확대, 상 및 적색 400 ms 획득 시간)을 이용하여 추적되었다. 사멸%가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + 룩소리티닙 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 + SD.

도 45. 8 nM MAGEA4-TCB에 의해 유도된 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D), IL-6 (E), IL-1β (F), IL-8 (G), MCP-1 (H) 및 IL-10 (I) 수준에 대한 확대 농도 (c)의 룩소리티닙의 효과. 72 시간 시점에, 상층액이 수집되었고, 그리고 사이토킨이 혈구계산 비드 어레이 (CBA)에 의해 분석되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 +/- SD.

도 46. 0 nM 내지 1000 nM 범위의 확대 농도의 시로리무스 (A), 템시로리무스 (B) 및 에베로리무스 (C)의 존재에서 8 nM MAGEA4-TCB에 의한 A375 NucLightRed (NLR) 세포의 실시간 사멸. A375 NLR 표적 세포가 8 nM MAGEA4-TCB, mTOR 저해제 및 PBMC, E:T = 50,000개의 PBMC: 5000개의 표적 세포와 공동배양되었다. 사멸이 Incucyte® (3 시간마다 1회 스캔, 10 x 확대, 상 및 적색 400 ms 획득 시간)을 이용하여 추적되었다. 사멸%가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + mTOR 저해제 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 + SEM.

도 47. 8 nM MAGEA4-TCB에 의해 유도된 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D), IL-6 (E), IL-1β (F), IL-8 (G), MCP-1 (H) 및 IL-10 (I) 수준에 대한 확대 농도 (c)의 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스의 효과. 72 시간 시점에, 상층액이 수집되었고, 그리고 사이토킨이 CBA에 의해 분석되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 +/- SD.

도 48. CD20-TCB에 의해 유도된 CTV 표지화된 WSU DLCL2 표적 세포 사멸에 대한 확대 농도의 바리시티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아지고, 그리고 유세포분석에 의해, 죽은 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포의 배제를 가능하게 하기 위해 LIVE/DEAD™ Near-IR 염료로 염색되었다.

1개의 대표적인 공여자.

도 49. 1 nM CD20-TCB에 의해 유도된 CTV 표지화된 WSU DLCL2 표적 세포 사멸에 대한 확대 농도의 바리시티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 종양 세포 및 PBMC가 한 데 모아지고, 그리고 유세포분석에 의해, 죽은 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포의 배제를 가능하게 하기 위해 LIVE/DEAD™ Near-IR 염료로 염색되었다. n=2개의 공여자의 평균.

도 50. CD20-TCB에 의해 유도된, CD4+ (A)와 CD8+ (B) T 세포 상에서 CD69 및 CD4+ (C)와 CD8+ (D) T 세포 상에서 CD25의 발현에 대한 확대 농도의 바리시티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 51. 1 nM CD20-TCB에 대한 CD4+ T 세포 상에서 CD69 (A) 및 CD25 (B) 발현에 대한 확대 농도의 바리시티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=2개의 공여자의 평균.

도 52. 1 nM CD20-TCB에 대한 CD8+ T 세포 상에서 CD69 (A) 및 CD25 (B) 발현에 대한 확대 농도의 바리시티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. n=2개의 공여자의 평균.

도 53. CD20-TCB의 용량 반응에 대한 사멸 검정에서 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D), IL-6 (E), IL-8 (F) 수준에 대한 확대 농도의 바리시티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 54. 1 nM CD20-TCB에 대한 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D), IL-6 (E), IL-8 (F) 수준에 대한 확대 농도의 바리시티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=2개의 공여자의 평균.

도 55. 0 nM 내지 1000 nM 범위의 바리시티닙 (A) 및 룩소리티닙 (B) 농도의 존재에서 1 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 세포의 실시간 사멸. MKN45 NLR 표적 세포가, 1 nM CEA-TCB 및 JAK 저해제로 보충된 배지에서 PBMC (E:T = 50,000개의 PBMC:5000개의 표적 세포)와 공동배양되었다. 사멸이 Incucyte® (3 시간마다 1회 스캔, 10 x 확대, 상 및 적색 400 ms 획득 시간)을 이용하여 추적되었다. 사멸%가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + 룩소리티닙 또는 바리시티닙 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 + SEM.

도 56. 10 nM CEA-TCB로 처리 후 72 시간 시점에 CD4+ (A) 및 CD8+ (B) T 세포 상에서 CD25 발현에 대한 확대 농도의 바리시티닙 대 룩소리티닙의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25의 발현이 69 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SD.

도 57. 10 nM CEA-TCB로 처리 후 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), GM-CSF (D), IL-6 (E), IL-8 (F) 방출에 대한 확대 농도의 바리시티닙 대 룩소리티닙의 효과. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. 저해%가 각 키나아제 저해제 농도에 대한 사이토킨 수준을, 어떤 키나아제 저해제도 추가되지 않은 조건에 정규화함으로써 계산되었다. n=3개의 공여자의 평균 +/- SEM.

도 58. 0 nM 내지 100 nM 범위의 확대 농도의 바리시티닙 (A) 및 룩소리티닙 (B)의 존재에서 25 nM MAGEA4-TCB에 의한 A375 NucLightRed (NLR) 세포의 실시간 사멸. A375 NLR 표적 세포가, 25 nM MAGEA4-TCB 및 JAK 저해제로 보충된 배지에서 PBMC (E:T = 50,000개의 PBMC : 5000개의 표적 세포)와 공동배양되었다. 사멸이 Incucyte® (3 시간마다 1회 스캔, 10 x 확대, 상 및 적색 400 ms 획득 시간)을 이용하여 추적되었다. 사멸 [%]가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + JAK 저해제 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 +/- SD.

도 59. 25 nM MAGEA4-TCB에 의해 유도된 GM-CSF (A), IL-2 (B), IFN-γ (C), TNF-α (D), IL-1β (E) 및 IL-6 (F) 수준에 대한 확대 농도 (0-100 nM)의 바리시티닙의 효과. 69 시간 시점에, 상층액이 수집되었고, 그리고 사이토킨이 CBA에 의해 분석되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 +/- SD.

도 60. 25 nM MAGEA4-TCB에 의해 유도된 GM-CSF (A), IL-2 (B), IFN-γ (C), TNF-α (D), IL-1β (E) 및 IL-6

(F) 수준에 대한 확대 농도 (0-100 nM)의 룩소리티닙의 효과. 69 시간 시점에, 상층액이 수집되었고, 그리고 사이토킨이 CBA에 의해 분석되었다. 1개의 대표적인 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 +/- SD.

도 61. 100 nM 룩소리티닙 또는 100 nM 시로리무스의 존재와 부재에서 PGLALA CAR-T 세포 (A) 및 CD16 CAR-T 세포 (B)에 의한 CTV 표지화된 WSU 종양 세포 사멸. PGLALA CAR-T 세포 및 CD16 CAR-T 세포가 100 nM 룩소리티닙 (ruxo) 또는 100 nM 시로리무스 (siro)의 존재와 부재에서 CTV 표지화된 WSU 종양 세포 (E:T=10:1), 그리고 PGLALA-Fc (PGLALA CAR-T 세포의 경우) 또는 야생형 Fc (CD16 CAR-T 세포의 경우) 중 어느 하나를 갖는 확대 농도의 항-CD20 IgG와 함께 공동배양되었다. 24 시간 시점에, 기술적 복제물이 한 데 모아지고, 그리고 유세포분석에 의해, 죽은 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포의 배제를 가능하게 하기 위해 LIVE/DEAD™ Near-IR 염료로 염색되었다. 1개의 대표적인 공여자.

도 62. PGLALA CAR-T 세포에 의해 유도된 GM-CSF (A), IFN-γ (B), IL-2 (C) 및 TNF-α (D)에 대한 100 nM 룩소리티닙 및 100 nM 시로리무스의 효과. PGLALA CAR-T 세포가 각각, 100 nM 룩소리티닙 (ruxo) 또는 100 nM 시로리무스 (siro)의 존재와 부재에서 CTV 표지화된 WSU 종양 세포 (E:T=10:1), 그리고 확대 농도의 PGLALA-Fc 항-CD20 IgG와 함께 공동배양되었다. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=2개의 공여자의 평균.

도 63. CD16 CAR-T 세포에 의해 유도된 GM-CSF (A), IFN-γ (B), IL-2 (C) 및 TNF-α (D)에 대한 100 nM 룩소리티닙 및 100 nM 시로리무스의 효과. CD16 CAR-T 세포가 100 nM 룩소리티닙 (ruxo) 또는 100 nM 시로리무스 (siro)의 존재와 부재에서 CTV 표지화된 WSU 종양 세포 (E:T=10:1), 그리고 확대 농도의 야생형 Fc 항-CD20 IgG와 함께 공동배양되었다. 24 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 분석되었다. n=2개의 공여자의 평균.

도 64. 시험관내 사멸 검정 설정. PBMC가, 24 시간 동안 상이한 키나아제 저해제 (100 nM)로 보충된 배지에서 확대 농도의 CD19-TCB의 존재에서 CellTrace™ Violet (CTV) 표지화된 SUDLH-8 종양 세포 (E:T=10:1)와 공동배양되었다.

도 65. 도 64 (24 시간)의 검정에서 CD19-TCB 유발 SUDLH-8 사멸 (A) 및 T 세포 활성화 (B, C, D, E)에 대한 100 nM 다사티닙 (Src 저해제), 시로리무스 (mTOR 저해제) 및 룩소리티닙 (JAK1/2 저해제)의 효과. Live/Dead 염색제를 이용하여 생존 세포로부터 배제된 죽은 CTV 표지화된 SUDLH-8 세포 (A), 그리고 CD4+ (B) 및 CD8+ (C) T 세포 상에서 CD69 발현, 그리고 CD4+ (D) 및 CD8+ (E) T 세포 상에서 CD25 발현의 대표적인 유세포분석 플롯. 3, 10 nM CD19-TCB 중에서 1개의 대표적인 공여자

도 66. 도 64의 검정에서 CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 CD19-TCB 의존성 사멸에 대한 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 템시로리무스 (temsi), 100 nM 에베로리무스 (evero) 및 100 nM 룩소리티닙 (ruxo)의 효과 CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 사멸이, 죽은 세포의 배제를 가능하게 하는 Live/Dead 염색제를 이용하여 24 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 + 표준 편차 (SD).

도 67. 도 64의 검정에서 CD19-TCB 의존성 T 세포 활성화에 대한 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 템시로리무스 (temsi), 100 nM 에베로리무스 (evero) 및 100 nM 룩소리티닙 (ruxo)의 효과. CD4+ (A, B) 및 CD8+ (C, D) T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 24 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 + SD.

도 68. 도 64의 검정에서 CD19-TCB 의존성 사이토킨 방출에 대한 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 템시로리무스 (temsi), 100 nM 에베로리무스 (evero) 및 100 nM 룩소리티닙 (ruxo)의 효과. IL-2 (A), IFN-γ (B), TNF-α (C), IL-6 (D) 및 GM-CSF (E)의 수준이 Luminex (24 시간)에 의해 상층액에서 계측되었다. 3개 중 1개의 대표적인 공여자.

도 69. 시험관내 사멸 검정 설정. PBMC가, 24 시간 동안 상이한 JAK 저해제 (100 nM)로 보충된 배지에서 확대 농도의 CD19-TCB의 존재에서 CTV 표지화된 SUDLH-8 세포 (E:T=10:1)와 공동배양되었다.

도 70. 도 69의 검정에서 CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 CD19-TCB 의존성 사멸에 대한 100 nM 룩소리티닙 (ruxo), 100 nM 바리시티닙 (bari) 및 100 nM 토파시티닙 (tofa)의 효과. CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 사멸이, 죽은 세포의 배제를 가능하게 하는 Live/Dead 염색제를 이용하여 24 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 + SD.

도 71. 도 69의 검정에서 CD19-TCB 의존성 T 세포 활성화에 대한 100 nM 룩소리티닙 (ruxo), 100 nM 바리시티닙 (bari) 및 100 nM 토파시티닙 (tofa)의 효과. CD4+ (A, B) 및 CD8+ (C, D) T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 24 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 + SD.

도 72. 도 69의 검정에서 CD19-TCB 의존성 사이토킨 방출에 대한 100 nM 룩소리티닙 (ruxo), 100 nM 바리시티닙 (bari) 및 100 nM 토파시티닙 (tofa)의 효과. IL-2 (A), IFN-γ (B), TNF-α (C), IL-6 (D) 및 GM-CSF (E)의 수준이 Luminex (24 시간)에 의해 상층액에서 계측되었다. 3개 중 1개의 대표적인 공여자.

도 73. 시험관내 사멸 검정 설정. PBMC가, 24 시간 동안 상이한 키나아제 저해제 (100 nM), 덱사메타손 (100 nM), 5 μg/mL 항-TNF-α 항체 (aTNF-α) 또는 5 μg/mL 항-IL-6R 항체 (aIL-6R)로 보충된 배지에서 확대 농도의 CD19-TCB의 존재에서 CTV 표지화된 SUDLH-8 세포 (E:T=10:1)와 공동배양되었다.

도 74. 도 73의 검정에서 CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 CD19-TCB 의존성 사멸에 대한 100 nM 덱사메타손 (dexa), 5 μg/mL 항-TNF-α 항체 (aTNF-α) 또는 5 μg/mL 항-IL-6R 항체 (aIL-6R) (A), 또는 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 템시로리무스 (temsi), 100 nM 에베로리무스 (evero) 또는 100 nM 룩소리티닙 (ruxo) (B)의 효과. CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 사멸이, 죽은 세포의 배제를 가능하게 하는 Live/Dead 염색제를 이용하여 24 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 + SD, 여기서 일원 변량 분석 (프리드만 검정)에 의해 * $p \leq 0.0332$, ** $p \leq 0.0021$.

도 75. 도 73의 검정에서 CD19-TCB 의존성 T 세포 활성화에 대한 100 nM 덱사메타손 (dexa), 5 μg/mL 항-TNF-α 항체 (aTNF-α) 또는 5 μg/mL 항-IL-6R 항체 (aIL-6R) (A, B) 또는 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 템시로리무스 (temsi), 100 nM 에베로리무스 (evero) 또는 100 nM 룩소리티닙 (ruxo) (C, D)의 효과. CD4+ T 세포 상에서 CD25 (A, C) 및 CD69 (B, D)의 발현이 24 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 + SD, 여기서 일원 변량 분석 (프리드만 검정)에 의해 * $p \leq 0.0332$, ** $p \leq 0.0021$.

도 76. 도 73의 검정에서 CD19-TCB 의존성 T 세포 활성화에 대한 100 nM 덱사메타손 (dexa), 5 μg/mL 항-TNF-α 항체 (aTNF-α) 또는 5 μg/mL 항-IL-6R 항체 (aIL-6R) (A, B), 또는 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 템시로리무스 (temsi), 100 nM 에베로리무스 (evero) 또는 100 nM 룩소리티닙 (ruxo) (C, D)의 효과. CD8+ T 세포 상에서 CD25 (A, C) 및 CD69 (B, D)의 발현이 24 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 + SD, 여기서 일원 변량 분석 (프리드만 검정)에 의해 * $p \leq 0.0332$, ** $p \leq 0.0021$.

도 77. 도 73의 검정에서 CD19-TCB 의존성 사이토킨 방출에 대한 100 nM 덱사메타손 (dexa), 5 μg/mL 항-TNF-α 항체 (aTNF-α) 또는 5 μg/mL 항-IL-6R 항체 (aIL-6R) (A-D), 또는 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 템시로리무스 (temsi), 100 nM 에베로리무스 (evero) 또는 100 nM 룩소리티닙 (ruxo) (E-H)의 효과. IFN-γ (A, E), IL-2 (B, F), TNF-α (C, G) 및 GM-CSF (D, H)의 수준이 Luminex (24 시간)에 의해 상층액에서 계측되었다. n=3개의 공여자의 평균 + 평균의 표준 오차 (SEM).

도 78. 시험관내 사멸 검정 설정. PBMC가, 24 시간 동안 확대 농도의 CD19-TCB의 존재에서 CTV 표지화된 NALM-6 세포 (E:T=10:1)와 공동배양되었다. 24 시간 시점에, 배양 배지가 100 nM 다사티닙, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 룩소리티닙으로 보충되었다.

도 79. 도 78의 검정에서 24 시간의 활성화 후 시스템에 추가될 때, CD19-TCB 유발 종양 세포 사멸에 대한 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 룩소리티닙 (ruxo)의 효과. CTV 표지화된 NALM-6 세포의 사멸이, 죽은 세포의 배제를 가능하게 하는 Live/Dead 염색제를 이용하여 24 시간 및 48 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. 2개 중 1개의 대표적인 공여자.

도 80. 도 78의 검정에서 24 시간의 활성화 후 시스템에 추가될 때, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 100 nM 다사티닙 (dasa), 100 nM 시로리무스 (siro), 100 nM 룩소리티닙 (ruxo)의 효과. IFN-γ (A), TNF-α (B), IL-2 (C) 및 IL-6 (D)의 수준이 Luminex (24 시간 및 48 시간)에 의해 상층액에서 계측되었다. 2개 중 1개의 대표적인 공여자.

도 81. 생체내 실험 타임라인 및 투약 일정. 인간화 NSG 생쥐가 0.5 mg/kg CD19-TCB (i.v.) 및 (i) 6x 50 mg/kg 다사티닙 (p.o.), (ii) 6 x 30 mg/kg 룩소리티닙 (p.o), (iii) 4 x 5 mg/kg 시로리무스 (p.o.), (iv) 2 x 1 mg/kg, 1 x 0.5 mg/kg 및 1x 0.25 mg/kg 덱사메타손 (p.o), 또는 (v) 2 x 10 mg/kg, 1 x 5 mg/kg, 1 x

2.5 mg/kg 메틸프레드니솔론 (p.o.)으로 동시처리되거나, 또는 30 mg/kg 오비누투주맙 (Gazyva®) (GpT) (i.v.)으로 전처리되고, 이후 0.5 mg/kg CD19-TCB (i.v.)로 처리되었다.

도 82. 도 81에서 설명된 실험에서 CD19-TCB 유발 B 세포 고갈에 대한 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT), 룩소리티닙 (ruxo), 다사티닙 (dasa), 시로리무스 (siro), 덱사메타손 (dexa) 및 메틸프레드니솔론 (MP)의 효과. CD20+ B 세포 수가, CD19-TCB로 처리후 48 시간 (A) 및 72 시간 (B) 시점에 수집된 혈액에서 유세포분석에 의해 계측되었다. n= 4마리 생쥐 또는 n= 3마리 생쥐 (dexa, MP 및 GpT)의 평균 +/-SEM, 여기서 일원 변량 분석 (크러스칼 왈리스 검정)에 의해 * $p \leq 0.0332$, ** $p \leq 0.0021$.

도 83. 도 81에서 설명된 실험에서 CD19-TCB 유발 B 세포 고갈에 대한 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT), 룩소리티닙 (ruxo), 다사티닙 (dasa), 시로리무스 (siro), 덱사메타손 (dexa) 및 메틸프레드니솔론 (MP)의 효과. CD20+ B 세포 수가, CD19-TCB로 처리후 종료, 72 시간 시점에 수집된 비장에서 유세포분석에 의해 계측되었다. n= 4마리 생쥐 또는 n= 3마리 생쥐 (운반제, dexa, MP 및 GpT)의 평균 +/-SEM.

도 84. 도 81에서 설명된 실험에서 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT), 룩소리티닙 (ruxo), 다사티닙 (dasa), 시로리무스 (siro), 덱사메타손 (dexa) 및 메틸프레드니솔론 (MP)의 효과. 인간 IFN-γ (hIFN-γ) (A), 인간 IL-2 (hIL-2) (B), 인간 TNF-α (hTNF-α) (C), 인간 IL-6 (hIL-6) (D)의 수준이, CD19-TCB로 처리후 6 시간 시점에 수집된 혈청에서 Luminex에 의해 계측되었다. n= 4마리 생쥐 또는 n= 3마리 생쥐 (dexa, MP 및 GpT)의 평균 +/-SEM.

도 85. 0 nM 내지 1000 nM 범위의 확대 농도의 페드라티닙의 존재에서 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NucLightRed (NLR) 세포의 실시간 사멸. MKN45 NLR 표적 세포가, 10 nM CEA-TCB 및 페드라티닙으로 보충된 배지에서 PBMC (E:T = 50,000개의 PBMC : 5000개의 표적 세포)와 공동배양되었다. 사멸이 Incucyte® (3 시간마다 1회 스캔, 10 x 확대, 상 및 적색 400 ms 획득 시간)을 이용하여 추적되었다. 사멸 [%]가 총 적색 구역을, t = 0 시간 및 각 시점에 대한 표적 세포 + PBMC + 페드라티닙 대조 웰의 값으로 정규화함으로써 계측되었다. 1개의 공여자에 대한 기술적 복제물의 평균 +/- SEM.

도 86. 10 nM CEA-TCB로 처리 후 72 시간 시점에 CD4+ (A, B) 및 CD8+ (C, D) T 세포 상에서 CD25 (B, D) 및 CD69 (A, C) 발현에 대한 확대 농도의 페드라티닙 (0-1000 nM)의 효과. 기술적 복제물이 한 데 모아졌고, 그리고 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25의 발현이 72 시간 시점에 유세포분석에 의해 계측되었다. 1개의 공여자.

도 87. 10 nM CEA-TCB에 의해 유도된 IFN-γ (A), IL-2 (B), TNF-α (C), IL-6 (D) 및 IL-8 (E) 수준에 대한 확대 농도 (0-1000 nM)의 페드라티닙의 효과. 72 시간 시점에, 기술적 복제물로부터 획득된 상층액이 한 데 모아졌고, 그리고 사이토킨 수준이 Luminex에 의해 분석되었다. 1개의 공여자.

도 88. CD19-TCB는 시험관내에서 림프종 PDX 세포를 사멸시킨다. 림프종 PDX 세포가 검정 당일에 해동되고, CTV 염료로 표지화되고, 그리고 CD19-TCB의 존재에서 24 시간 동안 PBMC (E:T=10:1)와 함께 배양되었다. (**A**) CTV 표지화된 PDX 세포의 사멸이, 한 데 모아진 기술적 복제물에서 유세포분석에 의해 계측되었다, n=3개의 PBMC 공여자의 평균 +/-SD. (**B-E**) CD4+ (**B**, **C**) 및 CD8+ (**D**, **E**) T 세포 상에서 CD69 (**B**, **D**) 및 CD25 (**C**, **E**)의 발현이, 한 데 모아진 기술적 복제물에서 T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다, n=3개의 PBMC 공여자의 평균 +/- SD.

도 89. 생체내 실험 타임라인 및 투약 일정. 인간화 NSG 생쥐에 림프종 PDX (5 백만 개 세포, s.c.)가 이식되었다. 종양의 크기가 200 mm^3에 도달할 때, 생쥐는 그들의 종양 크기에 근거하여 8개 또는 7개의 군에 무작위배정되고, 그리고 운반제 (i.v.)로, 0.5 mg/kg CD19-TCB (i.v.) 단독으로, 20 mg/kg 다사티닙 ("Srci", 점선 화살표, p.o), 5 mg/kg 시로리무스 ("mTORi", 파선 화살표, p.o.), 30 mg/kg 룩소리티닙 ("JAKi", 점선 화살표, p.o), 2회 1 mg/kg, 0.5 mg/kg 또는 4회 0.25 mg/kg 덱사메타손 ("dexa", 파선 화살표, p.o), 키나아제 저해제 및 덱사메타손 단독과 함께, 또는 CD19-TCB로 일차 처리 3 일 전에 30 mg/kg 오비누투주맙 ("GpT", 실선 회색 화살표, i.v.)으로 전처리된 0.5 mg/kg CD19-TCB (실선 검은색 화살표, i.v.)로 주 1회 처리되었다. 키나아제 저해제는 일차 CD19-TCB 투여의 당일에 2회 (D16, CD19-TCB 1 시간 전에 1회 및 그 후에 1회), 이후 2개의 다음 일자 (D17 및 D18)에 1회 (시로리무스) 또는 2회 (다사티닙, 룩소리티닙)뿐만 아니라 각 후속 CD19-TCB 투여 1 시간 전에 1회 제공되었다.

도 90. 단일요법으로서 운반제, 오비누투주맙 전처리 (GpT) 또는 CD19-TCB와 비교하여, 단독으로 또는 CD19-TCB와 조합된 시로리무스의 종양 성장 곡선. 종양 용적이 캘리퍼스를 이용하여 주 2회 또는 3회 계측되었다 (n= 6-

8마리 생쥐의 평균 + SD, 여기서 일원 변량 분석 (크러스칼 왈리스 검정)에 의해 * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001).

도 91. 단일요법으로서 운반제, 오비누투주맙 전처리 (GpT) 또는 CD19-TCB와 비교하여, 단독으로 또는 CD19-TCB와 조합된 룩소리티닙의 종양 성장 곡선. 종양 용적이 캘리퍼스를 이용하여 주 2회 또는 3회 계측되었다 (n= 6-8마리 생쥐의 평균 + SD, 여기서 일원 변량 분석 (크러스칼 왈리스 검정)에 의해 * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001).

도 92. 단일요법으로서 운반제, 오비누투주맙 전처리 (GpT) 또는 CD19-TCB와 비교하여, 단독으로 또는 CD19-TCB와 조합된 다사티닙의 종양 성장 곡선. 종양 용적이 캘리퍼스를 이용하여 주 2회 또는 3회 계측되었다 (n= 6-8마리 생쥐의 평균 + SD, 여기서 일원 변량 분석 (크러스칼 왈리스 검정)에 의해 * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001).

도 93. 단일요법으로서 운반제, 오비누투주맙 전처리 (GpT) 또는 CD19-TCB와 비교하여, 단독으로 또는 CD19-TCB와 조합된 덱사메타손의 종양 성장 곡선. 종양 용적이 캘리퍼스를 이용하여 주 2회 또는 3회 계측되었다 (n= 6-8마리 생쥐의 평균 + SD, 여기서 일원 변량 분석 (크러스칼 왈리스 검정)에 의해 * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001).

도 94. (A) IL-2, (B) IFN-γ, (C) TNF-α 및 (D) IL-6의 CD19-TCB 매개 방출에 대한 시로리무스 (mTOR 저해제), 룩소리티닙 (JAK1/2 저해제), 다사티닙 (Src 저해제) 및 덱사메타손의 효과. 사이토킨 수준이, CD19-TCB의 첫 번째 주입후 6 시간 시점에 수집된 혈청에서 Luminex에 의해 계측되었다. n= 6-8마리 생쥐의 평균 +SD, 여기서 일원 변량 분석 (크러스칼 왈리스 검정)에 의해 * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001.

도 95. 생체내 실험 타임라인 및 투약 일정. 인간화 NSG 생쥐가 운반제로, 또는 단독으로 또는 상이한 용량의 mTOR 저해제 (p.o.) (2, 5 또는 10 mg/kg 시로리무스, 10 mg/kg 템시로리무스 및 10 mg/kg 에베로리무스), JAK 저해제 (p.o.) (30 또는 60 mg/kg 룩소리티닙) 및 Src 저해제 (p.o.) (10 또는 50 mg/kg 다사티닙)와 조합으로 또는 30 mg/kg 오비누투주맙 (Gazyva®) (GpT) (i.v.)으로 전처리된 0.15 mg/kg CD20-TCB (i.v.)로 처리되었다. 군마다 n=4마리 생쥐.

도 96. 도 95에서 설명된 실험에서 48 시간 (A) 및 72 시간 (B) 시점에 CD20-TCB 유발 B 세포 고갈에 대한 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT), 룩소리티닙, 다사티닙, 시로리무스, 에베로리무스, 템시로리무스의 효과. 인간 CD45+ (huCD45) 세포 중에서 CD19+ B 세포의 비율이, CD20-TCB로 처리후 48 시간 및 72 시간 시점에 수집된 혈액에서 유세포분석에 의해 계측되었다. n=4마리 생쥐 또는 n=3마리 생쥐 (에베로리무스 군)의 평균 +/-SEM. 운반제 군과의 통계학적 비교가 표 (C)에서 요약되는데, 여기서 p 값은 크러스칼 왈리스 검정에 의해 계산되었다.

도 97. 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙) 또는 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT)와 조합으로 CD20-TCB로 처리 후 4 시간 (A) 및 24 시간 (B) 시점에, 도 95에서 설명된 실험으로부터 획득된, 생쥐의 혈청 내에 IFN-γ의 수준. 24 시간 시점에 n=4마리 생쥐의 평균 +/- SEM, 또는 n=3마리 생쥐의 평균 +/- SEM (에베로리무스 군).

도 98. 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙) 또는 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT)와 조합으로 CD20-TCB로 처리 후 4 시간 (A) 및 24 시간 (B) 시점에, 도 95에서 설명된 실험으로부터 획득된, 생쥐의 혈청 내에 IL-2의 수준. 24 시간 시점에 n=4마리 생쥐의 평균 +/- SEM, 또는 (에베로리무스 군)의 경우에 n=3마리 생쥐의 평균 +/- SEM.

도 99. 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙) 또는 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT)와 조합으로 CD20-TCB로 처리 후 4 시간 (A) 및 24 시간 (B) 시점에, 도 95에서 설명된 실험으로부터 획득된, 생쥐의 혈청 내에 TNF-α의 수준. 24 시간 시점에 n=4마리 생쥐의 평균 +/- SEM, 또는 n=3마리 생쥐의 평균 +/- SEM (에베로리무스 군).

도 100. 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙) 또는 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT)와 조합으로 CD20-TCB로 처리 후 4 시간 (A) 및 24 시간 (B) 시점에, 도 95에서 설명된 실험으로부터 획득된, 생쥐의 혈청 내에 IL-6의 수준. 24 시간 시점

에 n=4마리 생쥐의 평균 +/- SEM, 또는 n=3마리 생쥐의 평균 +/- SEM (에베로리무스 군).

도 101. 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙) 또는 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT)와 조합으로 CD20-TCB로 처리 후 4 시간 (A) 및 24 시간 (B) 시점에, 도 95에서 설명된 실험으로부터 획득된, 생쥐의 혈청 내에 IP-10 (CXCL10)의 수준. 24 시간 시점에 n=4마리 생쥐의 평균 +/- SEM, 또는 n=3마리 생쥐의 평균 +/- SEM (에베로리무스 군).

도 102. 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙) 또는 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT)와 조합으로 CD20-TCB로 처리 후 4 시간 (A) 및 24 시간 (B) 시점에, 도 95에서 설명된 실험으로부터 획득된, 생쥐의 혈청 내에 MCP-1 (CCL2)의 수준. 24 시간 시점에 n=4마리 생쥐의 평균 +/- SEM, 또는 n=3마리 생쥐의 평균 +/- SEM (에베로리무스 군).

도 103. 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙) 또는 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT)와 조합으로 CD20-TCB로 처리 후 4 시간 (A) 및 24 시간 (B) 시점에, 도 95에서 설명된 실험으로부터 획득된, 생쥐의 혈청 내에 IL-8의 수준. 24 시간 시점에 n=4마리 생쥐의 평균 +/- SEM, 또는 n=3마리 생쥐의 평균 +/- SEM (에베로리무스 군).

도 104. 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙) 또는 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT)와 조합으로 CD20-TCB로 처리 후 4 시간 (A) 및 24 시간 (B) 시점에, 도 95에서 설명된 실험으로부터 획득된, 생쥐의 혈청 내에 GM-CSF의 수준. 24 시간 시점에 n=4마리 생쥐의 평균 +/- SEM, 또는 n=3마리 생쥐의 평균 +/- SEM (에베로리무스 군).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0292] **실시예**

[0293] 다음은 본원 발명의 방법과 조성물의 실시예이다. 앞서 제공된 일반적인 설명을 고려하면, 다양한 다른 양상이 실시될 수 있는 것으로 이해된다.

[0294] **실시예 1. mTOR 저해제 시로리무스는 TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 영향을 최소로 하면서, TCB 매개 사이토킨 방출을 예방한다.**

[0295] TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 시로리무스의 저해 효과를 사정하기 위해, 우리는 확대 농도의 시로리무스로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), MKN45 NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 10 nM CEA-TCB (서열 번호 4-23)를 이용한 사멸 검정을 수행하였다 (**도 1**). Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 1 μM (~915 ng/mL) 내지 12.5 nM (~11.4 ng/mL) 범위의 용량의 시로리무스는 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 표적 세포 사멸을 단지 부분적으로만 감소시켰다 (**도 2A** 및 **도 3A**).

[0296] 검정 종결점 (72 시간)에서, PBMC 생존력에 대한 시로리무스의 영향을 실증하기 위해, PBMC가 생존/죽음 염색제로 염색되었다. 1 μM (~915 ng/mL) 내지 12.5 nM (~11.4 ng/mL) 범위의 농도에서, 시로리무스는 10 nM CEA-TCB로 처리된 샘플에서 PBMC 생존력에 직접적인 영향을 주지 않았다 (**도 4B**). 살아있는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현 또한, T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다. 시로리무스는 CD8+ T 세포 상에서 CD69의 발현에는 영향을 주지 않았지만, 25 nM을 초과하는 농도에서 CD4+ T 세포에서는 이것이 ~45%에서 ~25%로 감소하였다. 25 nM을 초과하는 농도에서, 시로리무스는 CD25의 발현을 CD4+ 상에서는 ~45%에서 ~15%로, 그리고 CD8+ T 세포 상에서는 ~75%에서 40%로 감소시켰다 (**도 6**).

[0297] 마지막으로, CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 시로리무스의 영향을 결정하기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다. 임의의 농도의 시로리무스의 존재에서, 10 nM CEA-TCB로 처리된 샘플에서 IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-6, MCP-1, IL-8, IL-10, IL-4 및 GM-CSF의 수준은 어떤 시로리무스 처리도 제공받지 않은 샘플과 비교하여 매우 낮은 것으로 밝혀졌다 (**도 8**). 12.5 nM부터 1 μM까지의 전체 농도 범위에 걸쳐 시로리무스는 CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 비슷한 영향을 야기하였는데, 이것은 시로리무스가 사이토킨 방출을 강하게 하향조절한다는 것을 증명하였다.

[0298] 시로리무스는 비록 TCB에 의해 촉발된 표적 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 완전히 저해하지는 않지만, 심지어, 검사된 가장 낮은 용량에서도 사이토킨 방출을 강하게 감소시킨다.

[0299] 다른 TCB로 유사한 실험이 수행되었다. WSU DLCL2 세포가 1 nM CD20-TCB (서열 번호 4-11, 24-35), 그리고 0 nM 내지 1000 nM 범위의 확대 용량의 시로리무스의 존재에서 PBMC와 함께 공동배양되었다 (**도 13**). CTV 표지화된 WSU 표적 세포의 사멸 (**도 14C**)뿐만 아니라 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현 (**도 17**)이 각각, TCB 효능 및 T 세포 활성화에 대한 시로리무스의 효과의 판독으로서 24 시간 시점에 계측되었다. 마지막으로, CD20-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 확대 농도의 시로리무스의 영향을 사정하기 위해, IFN-γ, IL-2, TNF-α, GM-CSF 및 IL-6의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다 (**도 21**). CEA-TCB를 이용한 조사 결과와 일관하게, 시로리무스는 CD20-TCB 매개 표적 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 완전히 저해하지는 않지만, 12.5 nM 초과의 농도에서 CD20-TCB에 의해 유도된 사이토킨 방출을 강하게 감소시켰다.

[0300] **실시예 2. mTOR 저해제 템시로리무스는 TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 영향을 최소로 하면서, TCB 매개 사이토킨 방출을 예방한다.**

[0301] TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 템시로리무스의 저해 효과를 사정하기 위해, 우리는 확대 농도의 템시로리무스로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 10 nM CEA-TCB를 이용한 사멸 검정을 수행하였다 (**도 1**). Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 1 μM (~1031 ng/mL) 내지 12.5 nM (~12.9 ng/mL) 범위의 용량의 템시로리무스는 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 표적 세포 사멸을 단지 부분적으로만 감소시켰다 (**도 2C** 및 **도 3C**).

[0302] 검정 종결점 (72 시간)에서, PBMC 생존력에 대한 템시로리무스의 영향을 실증하기 위해, PBMC가 생존/죽음 염색제로 염색되었다. 1 μM (~1031 ng/mL) 내지 12.5 nM (~12.9 ng/mL) 범위의 농도에서, 템시로리무스는 10 nM CEA-TCB로 처리된 샘플에서 PBMC 생존력에 직접적인 영향을 주지 않았다 (**도 4C**). 살아있는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현 또한, T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다. 템시로리무스는 CD8+ T 세포 상에서 CD69의 발현에는 영향을 주지 않았지만, 25 nM을 초과하는 농도에서 CD4+ T 세포에서는 이것이 ~45%에서 ~25%로 감소하였다. 25 nM을 초과하는 농도에서, 템시로리무스는 CD25의 발현을 CD4+ 상에서는 ~45%에서 ~15%로, 그리고 CD8+ T 세포 상에서는 ~75%에서 40%로 감소시켰다 (**도 7**).

[0303] CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 템시로리무스의 영향을 결정하기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다. 임의의 농도의 템시로리무스의 존재에서, 10 nM CEA-TCB로 처리된 샘플에서 IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-6, MCP-1, IL-8, IL-10, IL-4 및 GM-CSF의 수준은 어떤 템시로리무스 처리도 제공받지 않은 샘플과 비교하여 매우 낮은 것으로 밝혀졌다 (**도 8**). 12.5 nM부터 1 μM까지의 전체 농도 범위에 걸쳐 템시로리무스는 CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 비슷한 영향을 야기하였는데, 이것은 템시로리무스가 사이토킨 방출을 강하게 하향조절한다는 것을 증명하였다.

[0304] 템시로리무스는 비록 TCB에 의해 촉발된 표적 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 완전히 저해하지는 않지만, 심지어, 검사된 가장 낮은 용량에서도 사이토킨 방출을 강하게 감소시킨다.

[0305] CD20-TCB로 유사한 실험이 수행되었다. WSU DLCL2 세포가 1 nM CD20-TCB, 그리고 0 nM 내지 1000 nM 범위의 확대 용량의 템시로리무스의 존재에서 PBMC와 함께 공동배양되었다 (**도 13**). CTV 표지화된 WSU 표적 세포의 사멸 (**도 14B**)뿐만 아니라 CD4+ 및 CD8+ 상에서 CD25 및 CD69의 발현 (**도 16**)이 각각, TCB 효능 및 T 세포 활성화에 대한 템시로리무스의 효과의 판독으로서 24 시간 시점에 계측되었다. 마지막으로, CD20-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 확대 농도의 템시로리무스의 영향을 사정하기 위해, IFN-γ, IL-2, TNF-α, GM-CSF 및 IL-6의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다 (**도 20**). CEA-TCB를 이용한 조사 결과와 일관하게, 템시로리무스는 CD20-TCB 매개 표적 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 완전히 저해하지는 않지만, 12.5 nM 초과의 농도에서 CD20-TCB에 의해 유도된 사이토킨 방출을 강하게 감소시켰다.

[0306] **실시예 3. mTOR 저해제 에베로리무스는 TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 영향을 최소로 하면서, TCB 매개 사이토킨 방출을 예방한다.**

[0307] TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 에베로리무스의 저해 효과를 사정하기 위해, 우리는 확대 농도의 에베로리무스로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 10 nM CEA-TCB를 이용한 사멸 검정을 수행하였다 (**도 1**). Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 1 μM (~ 959 ng/mL) 내지 12.5 nM (~12.0 ng/mL) 범위의 용량의 에베로리무스는 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 표적 세포 사멸을 단지 부분적으로만 감소시켰다 (**도 2B** 및 **도 3B**).

[0308] 검정 종결점 (72 시간)에서, PBMC 생존력에 대한 에베로리무스의 영향을 실증하기 위해, PBMC가 생존/죽음 염색제로 염색되었다. 1 μM (~ 959 ng/mL) 내지 12.5 nM (~12.0 ng/ mL) 범위의 농도에서, 에베로리무스는 10 nM CEA-TCB로 처리된 샘플에서 PBMC 생존력에 직접적인 영향을 주지 않았다 (**도 4A**). 살아있는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현 또한, T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다. 에베로리무스는 CD8+ T 세포 상에서 CD69의 발현에는 영향을 주지 않았지만, 25 nM을 초과하는 농도에서 CD4+ T 세포에서는 이것이 ~45%에서 ~25%로 감소하였다. 25 nM을 초과하는 농도에서, 에베로리무스는 CD25의 발현을 CD4+ 상에서는 ~45%에서 ~15%로, 그리고 CD8+ T 세포 상에서는 ~70%에서 40%로 감소시켰다 (**도 5**).

[0309] CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 에베로리무스의 영향을 결정하기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다. 임의의 농도의 에베로리무스의 존재에서, 10 nM CEA-TCB로 처리된 샘플에서 IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-6, MCP-1, IL-8, IL-10, IL-4 및 GM-CSF의 수준은 어떤 에베로리무스 처리도 제공받지 않은 샘플과 비교하여 매우 낮은 것으로 밝혀졌다 (**도 8**). 12.5 nM부터 1 μM까지의 전체 농도 범위에 걸쳐 에베로리무스는 CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 비슷한 영향을 야기하였는데, 이것은 에베로리무스가 사이토킨 방출을 강하게 하향조절한다는 것을 증명하였다.

[0310] 에베로리무스는 비록 TCB에 의해 촉발된 표적 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 완전히 저해하지는 않지만, 심지어, 검사된 가장 낮은 용량에서도 사이토킨 방출을 강하게 감소시킨다.

[0311] CD20-TCB로 유사한 실험이 수행되었다. WSU DLCL2 세포가 1 nM CD20-TCB, 그리고 0 nM 내지 1000 nM 범위의 확대 용량의 에베로리무스의 존재에서 PBMC와 함께 공동배양되었다 (**도 13**). CTV 표지화된 WSU 표적 세포의 사멸 (**도 14D**)뿐만 아니라 CD4+ 및 CD8+ 상에서 CD25 및 CD69의 발현 (**도 18**)이 각각, TCB 효능 및 T 세포 활성화에 대한 에베로리무스의 효과의 판독으로서 24 시간 시점에 계측되었다. 마지막으로, CD20-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 확대 농도의 에베로리무스의 영향을 사정하기 위해, IFN-γ, IL-2, TNF-α, GM-CSF 및 IL-6의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다 (**도 22**). CEA-TCB를 이용한 조사 결과와 일관하게, 에베로리무스는 CD20-TCB 매개 표적 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 완전히 저해하지는 않지만, 12.5 nM 초과의 농도에서 CD20-TCB에 의해 유도된 사이토킨 방출을 강하게 감소시켰다.

[0312] **실시예 4. JAK1/2 저해제 룩소리티닙은 TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 영향을 최소로 하면서, TCB 매개 사이토킨 방출을 예방한다.**

[0313] TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 룩소리티닙의 저해 효과를 사정하기 위해, 우리는 확대 농도의 룩소리티닙으로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), MKN45 NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 10 nM CEA-TCB를 이용한 사멸 검정을 수행하였다 (**도 1**). Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 100 nM (~30.7 ng/mL) 내지 6.25 nM (~1.9 ng/mL) 범위의 용량의 룩소리티닙은 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 표적 세포 사멸을 단지 부분적으로만 감소시켰다 (**도 9A** 및 **B**).

[0314] 검정 종결점 (69 시간)에서, PBMC 생존력에 대한 룩소리티닙의 영향을 실증하기 위해, PBMC가 생존/죽음 염색제로 염색되었다. 100 nM (~30.7 ng/mL) 내지 6.25 nM (~1.9 ng/mL) 범위의 농도에서, 룩소리티닙은 10 nM CEA-TCB로 처리된 샘플에서 PBMC 생존력에 직접적인 영향을 주지 않았다 (**도 10**). 살아있는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현 또한, T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다. 룩소리티닙은 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 모두 상에서 CD25 및 CD69의 발현에 용량 의존성으로 영향을 주었다 (**도 11**). CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 발현에 대한 확대 용량의 룩소리티닙의 효과는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 발현에 대한 효과보다 덜 확연하였다.

[0315] CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 룩소리티닙의 영향을 결정하기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다. 확대 용량의 룩소리티닙의 존재에서, 10 nM CEA-TCB로 처리된 샘플에서 IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-6, MCP-1, IL-8, IL-10, IL-4 및 GM-CSF의 수준은 어떤 룩소리티닙 처리도 제공받지 않은 샘플과 비교하여 매우 낮은 것으로 밝혀졌다 (**도 12**). 룩소리티닙은 전반적인 CEA-TCB 유발 사이토킨 방출을 강하게 하향조절하였다.

[0316] 룩소리티닙은 비록 TCB에 의해 촉발된 표적 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 완전히 저해하지는 않지만, 심지어, 검사된 가장 낮은 용량에서도 사이토킨 방출을 강하게 감소시킨다.

[0317] CD20-TCB로 유사한 실험이 수행되었다. WSU DLCL2 세포가 1 nM CD20-TCB, 그리고 0 nM 내지 1000 nM 범위의 확대 용량의 룩소리티닙의 존재에서 PBMC와 함께 공동배양되었다 (**도 13**). CTV 표지화된 WSU 표적 세포의 사멸

(**도 14A**)뿐만 아니라 CD4+ 및 CD8+ 상에서 CD25 및 CD69의 발현 (**도 15**)이 각각, TCB 효능 및 T 세포 활성화에 대한 룩소리티닙의 효과의 판독으로서 24 시간 시점에 계측되었다. 마지막으로, CD20-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 확대 농도의 시로리무스의 영향을 사정하기 위해, IFN-γ, IL-2, TNF-α, GM-CSF 및 IL-6의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다 (**도 19**). 룩소리티닙은 CD20-TCB 매개 표적 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 완전히 저해하지는 않지만, 25 nM nM 초과의 농도에서 CD20-TCB에 의해 유도된 IL-6 및 IFN-γ 방출을 강하게 감소시켰다. mTOR 저해제와 달리, 룩소리티닙은 TNF-α, IL-2 및 GM-CSF의 방출에 강한 영향을 주지 않았다.

[0318] **실시예 5. TCB 매개 표적 사멸, T 세포 활성화 및 사이토킨 방출에 대한 mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스) 및 JAK 저해제 (룩소리티닙) 대 항-TNF-α 항체, 항-IL-6R 항체, 덱사메타손 및 다사티닙의 효과.**

[0319] TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한, 항-TNF-α 항체, 항-IL-6R 항체, 덱사메타손 및 다사티닙과 비교하여 mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스) 및 JAK 저해제 (룩소리티닙)의 영향을 사정하기 위해, 우리는 상이한 화합물로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), MKN45 NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 10 nM CEA-TCB를 이용한 사멸 검정을 수행하였다 (**도 1**). Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 중화 항-TNF-α 및 항-IL-6R 항체 (5 μg/ml)는 TCB 단독과 비교하여, 표적 세포 사멸의 동역학 및 최대 표적 세포 사멸 둘 모두에 영향을 주지 않았다. 50 nM JAK 저해제 (룩소리티닙), 50 nM mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스)는 표적 세포 사멸에 대해 1 μM 및 0.1 μM 덱사메타손과 유사한 영향을 주었고, 그리고 50 nM 다사티닙의 추가는 TCB 유발 표적 세포 사멸을 완전히 차단하였다. (**도 23**).

[0320] 검정 종결점 (66 시간)에서, T 세포 활성화에 대한 상이한 화합물의 영향을 사정하기 위해, CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스) 및 JAK 저해제 (룩소리티닙)는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69 발현에 덱사메타손 또는 다사티닙보다 더 온화한 영향을 주는 반면, 항-TNF-α 및 항-IL-6R 항체는 T 세포 활성화에 영향을 주지 않았다 (**도 24** 및 **도 25**).

[0321] CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 상이한 화합물의 영향을 결정하기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다. 키나아제 저해제 및 덱사메타손의 이용은 TNF-α 및 IL-6과 같은 특정한 사이토킨을 향한 중화 항체와 비교하여 TCB 유발 사이토킨 방출의 전반적인 감소를 야기하였다 (**도 26**). 다사티닙은 CEA-TCB 유발 사이토킨 방출뿐만 아니라 T 세포 활성화 및 표적 세포 사멸을 완전히 예방하는 반면, mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스) 및 JAK 저해제 (룩소리티닙)는 사이토킨 방출을 독립적으로 저해하고 T 세포 활성화 및 표적 세포 사멸에 대한 효과가 더 온화하였다. JAK1/2 저해제 룩소리티닙은 IL-2 수준을, mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스)보다 덜 강하게 감소시켰다 (**도 26B**).

[0322] CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스) 및 JAK 저해제 (룩소리티닙)의 효과는 덱사메타손 및 다사티닙과 비슷하고, 그리고 항-TNF-α 및 항-IL-6R 항체와 비교하여 더 강하다. 다른 한편으로, mTOR 및 JAK 저해제는 다사티닙과 비교하여, 사멸 효능 및 T 세포 활성화에 더 적은 영향을 준다.

[0323] 다른 TCB로 유사한 실험이 수행되었다. WSU 세포가 확대 용량의 CD20-TCB, 그리고 mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스, 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), 다사티닙, 덱사메타손, 항-TNF-α 항체 또는 항-IL-6R 항체의 존재에서 PBMC와 함께 공동배양되었다. B 세포의 사멸이 24 시간 시점에 TCB 효능에 대한 다양한 화합물의 영향에 대한 판독으로서 계측되었다 (**도 27** 및 **28**). CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 24 시간 시점에 T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다 (**도 29**, **30** 및 **31**). 마지막으로, TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 상이한 처리의 영향을 사정하기 위해, 검정 종결점에서 사이토킨 (TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-6, IL-4, IL-10, GM-CSF 및 IL-1β)의 수준이 Luminex에 의해 분석되었다 (**도 32** 및 **33**). CEA-TCB로 목격된 바와 같이, mTOR (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스) 및 JAK (룩소리티닙) 저해제는 CD20-TCB 유발 사이토킨 방출에 대해 덱사메타손 및 다사티닙과 비슷한 효과를 갖고, 그리고 전체 사이토킨 방출을 감소시키는 데에 항-TNF-α 및 항-IL-6R 항체보다 강한 효과를 갖는다. 다사티닙과 달리, mTOR (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스) 및 JAK (룩소리티닙) 저해제는 B 세포의 사멸을 예방하지도 CD20-TCB에 의해 유도된 T 세포 활성화를 차단하지도 않았는데, 이것은 이들이 TCB의 효능에 강하게 영향을 주지 않는다는 것을 암시한다.

[0324] 요약하면, mTOR 및 JAK 저해제는 다사티닙 (Src 저해제) 또는 덱사메타손보다 사멸 효능 및 T 세포 활성화에 더

적은 영향을 준다. 그 대신에, 사멸 효능 및 T 세포 활성화에 대한 이들의 영향은 항-TNF-α 또는 항-IL-6R 항체의 영향과 상당히 비슷하다. 다른 한편으로, 덱사메타손 및 다사티닙과 같은 mTOR 및 JAK 저해제는 항-TNF-α 또는 항-IL-6R 항체보다 강력하게 사이토킨 방출을 감소시킨다. mTOR 및 JAK 저해제의 차별적 활성은 TCB 유발 사이토킨 방출 및 세포독성의 분리를 보여주는데, 이것은 이들 화합물이 CRS의 완화를 위한 스테로이드 또는 IL-6/IL-6R 차단에 대한 매력적인 대안 또는 보완제일 수 있다는 것을 암시한다.

[0325] **실시예 6. 미리 활성화된 효과기 세포로부터 CD20-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 시로리무스, 템시로리무스, 에베로리무스 및 룩소리티닙의 효과**

[0326] mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스) 및 JAK 저해제 (룩소리티닙)가 CD20-TCB의 처리에 의해 유도된 사이토킨의 추가 방출을 예방할 수 있는지를 사정하기 위해, 이들이 18 시간의 활성화 후 시험관내 사멸 검정에 추가되었다. 이러한 검정에서, CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포가 확대 용량의 CD20-TCB의 존재에서 18 시간 동안 PBMC와 공동배양되었다. 18 시간 시점에, 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 템시로리무스, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 에베로리무스가 시스템에 추가되었다 (**도 34**). T 세포가 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 템시로리무스, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 에베로리무스의 추가 전 활성화되었는지를 실증하기 위해, 18 시간 시점에 종양 세포 사멸, T 세포 활성화 및 사이토킨 방출이 계측되었다. TCB 효능에 대한 영향에 대하여 TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 템시로리무스, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 에베로리무스 추가의 영향을 사정하기 위해; 사이토킨 방출, T 세포 활성화 및 종양 세포 사멸이 44 시간 시점에 계측되었다.

[0327] 18 시간 시점에, CD20-TCB로 처리는 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포의 사멸 (**도 35**)뿐만 아니라 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 모두 상에서 CD25의 상향조절 (**도 36**)을 야기하였는데, 이것은 T 세포가 검정 시스템에서 상이한 저해제의 추가 전 활성화되었다는 것을 표시한다. 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 템시로리무스, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 에베로리무스의 추가는 44 시간 시점에 계측된 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포 사멸 (**도 37**) 및 T 세포 활성화 (**도 38**)에 영향을 주지 않았다. 하지만, mTOR 저해제 (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스)의 추가는 18 시간 및 44 시간 사이에 IL-2, IFN-γ, IL-6 및 GM-CSF 방출, 그리고 정도가 덜하긴 하지만 TNF-α 및 IL-1β의 방출을 중단시켰다 (**도 39**). JAK 저해제 (룩소리티닙)의 추가는 18 시간 및 44 시간 사이에 IFN-γ, IL-6의 추가 생산, 그리고 정도가 덜하긴 하지만 GM-CSF 및 TNF-α의 생산을 예방하지만, IL-2의 추가 생산을 예방하지는 못하였다 (**도 39**).

[0328] 게다가, 이들 결과는 1 nM의 고정된 CD20-TCB 농도에서 3개의 공여자에 대해 확증되었다. 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 템시로리무스, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 에베로리무스의 추가는 18 시간 및 44 시간 사이에 추가의 CTV 표지화된 WSU DLCL2 종양 세포 사멸 (**도 40**) 및 T 세포 활성화 (**도 41** 및 **42**)에 영향을 주지 않았다. 하지만, 100 nM 템시로리무스, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 에베로리무스의 추가는 18 시간 및 44 시간 사이에 IFN-γ, IL-2, IL-6의 추가 방출, 그리고 정도가 덜하긴 하지만 TNF-α 및 IL-1β 방출을 예방하였다 (**도 43**). 100 nM 룩소리티닙의 추가는 IFN-γ 및 IL-6, 그리고 정도가 덜하긴 하지만 TNF-α 및 IL-1β의 추가 방출을 예방하지만, IL-2 방출을 예방하지는 못하였다 (**도 43**).

[0329] 전반적으로, 이들 데이터는 mTOR (템시로리무스, 시로리무스 및 에베로리무스)뿐만 아니라 JAK (룩소리티닙) 저해제가 CD20-TCB 효능에 강하게 영향을 주지 않으면서, 미리 활성화된 효과기 세포로부터 CD20-TCB 유발 사이토킨 방출을 신속하게 차단할 수 있다는 것을 암시한다.

[0330] **실시예 7. JAK1/2 저해제 룩소리티닙은 TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 영향을 최소로 하면서, TCB 매개 사이토킨 방출을 예방한다.**

[0331] TCB 유발 종양 세포 사멸 및 사이토킨 방출에 대한 룩소리티닙의 효과가 추가의 TCB인 MAGEA4-TCB (서열 번호 37-56)를 이용하여 사정되었다. 실시예 4와 유사하게, 0 nM 내지 100 nM 범위의 확대 농도의 룩소리티닙으로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), A375 NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 8 nM MAGEA4-TCB를 이용한 사멸 검정이 수행되었다. Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 MAGEA4-TCB 유발 표적 세포 사멸에 대한 룩소리티닙의 효과를 평가하는 것을 가능하게 하는, 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 마지막으로, 상층액이 검정 종결점 (72 시간)에서 수집되었고, 그리고 MAGEA4-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 확대 농도의 룩소리티닙의 효과를 사정하기 위해, 사이토킨이 Luminex에 의해 계측되었다.

[0332] 룩소리티닙이 MAGEA4-TCB 유발 종양 세포 사멸을 예방하지 않지만 (**도 44**), 룩소리티닙의 농도를 증가시킴에 따

라서 IFN-γ (**도 45A**), TNF-α (**도 45C**), IL-8 (**도 45G**), IL-6 (**도 45E**), MCP-1 (**도 45H**), IL-10 (**도 45I**) 및 IL-1β (**도 45F**)의 수준이 감소되었다. GM-CSF (**도 45D**) 및 IL-2 (**도 45B**)의 수준은 CEA-TCB 및 CD20-TCB로 산출된 데이터와 일관하게, 룩소리티닙에 의해 영향을 받지 않았다. 따라서, JAK1/2 저해제 룩소리티닙은 효능뿐만 아니라 IL-2 및 GM-CSF 수준에 영향을 주지 않으면서, MAGEA4-TCB 유발 사이토킨 방출을 완화하기 위한 매력적인 접근방식을 나타낼 수 있었다.

[0333] **실시예 8. mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스는 TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 영향을 최소로 하면서, TCB 매개 사이토킨 방출을 예방한다.**

[0334] TCB 유발 종양 세포 사멸 및 사이토킨 방출에 대한 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스의 효과가 추가의 TCB인 MAGEA4-TCB를 이용하여 사정되었다. 실시예 1-3과 유사하게, 0 nM 내지 100 nM 범위의 확대 농도의 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), A375 NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 8 nM MAGEA4-TCB를 이용한 사멸 검정이 수행되었다. Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 마지막으로, 상층액이 검정 종결점 (72 시간)에서 수집되었고, 그리고 MAGEA4-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 확대 농도의 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스의 효과를 사정하기 위해, 사이토킨이 Luminex에 의해 계측되었다.

[0335] 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스가 MAGEA4-TCB 유발 종양 세포 사멸을 예방하지 않지만 (**도 46A, B, C**), 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스의 농도가 증가함에 따라서, IFN-γ (**도 47A**), IL-2 (**도 47B**), TNF-α (**도 47C**), IL-8 (**도 47G**), IL-6 (**도 47E**), MCP-1 (**도 47H**) 및 IL-10 (**도 47I**)을 비롯한, 검사된 사이토킨 중에서 대부분의 수준이 감소되었다. CEA-TCB 및 CD20-TCB로 산출된 데이터와 일관하게, mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스는 효능에 영향을 주지 않으면서, MAGEA4-TCB 유발 사이토킨 방출을 완화하기 위한 매력적인 접근방식을 나타낼 수 있었다.

[0336] **실시예 9. JAK 저해제 바리시티닙은 효능에 영향을 주지 않으면서, TCB 유발 사이토킨 방출을 효율적으로 예방할 수 있다.**

[0337] CD20-TCB 매개 표적 세포 사멸 및 사이토킨 방출에 대한 JAK1/2 저해제 바리시티닙의 저해 효과를 사정하기 위해, 말초혈 단핵 세포 (PBMC)가 확대 농도의 바리시티닙으로 보충된 배지에서 CTV 표지화된 WSU 표적 세포 및 CD20-TCB와 공동배양되었다. 24 시간 시점에, 종양 세포 사멸이 죽은 CTV 세포의 배제에 의한 유세포분석에 의해 계측되었다. 상층액이 수집되었고, 그리고 사이토킨이 Luminex에 의해 계측되었다. 이에 더하여, T 세포 활성화에 대한 바리시티닙의 영향을 사정하기 위해, CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD69 및 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다.

[0338] 결과로써, 0 nM 내지 100 nM 범위의 농도의 바리시티닙은 CD4+ (**도 50A, C 및 51**) 및 CD8+ (**도 50B, D 및 52**) T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현에 의해 나타난 바와 같이, CD20-TCB 유발 종양 세포 사멸 (**도 48 및 49**) 및 T 세포 활성화에 영향을 주지 않았다. 1 μM의 더 높은 농도에서, 바리시티닙은 CD20-TCB 유발 종양 세포 사멸 (**도 48 및 49**) 및 T 세포 활성화 (**도 50A-D, 51 및 52**)를 약간 감소시켰다. 다른 JAK 저해제 룩소리티닙과 유사하게, 확대 용량의 바리시티닙은 IFN-γ, TNF-α, GM-CSF, IL-6 및 IL-8 (**도 53A, C, D, E 및 F, 도 54A, C, D, E 및 F**)의 수준은 감소시키지만, IL-2 (**도 53B, 도 54B**)는 그렇지 않았다.

[0339] 바리시티닙은 CD20-TCB에 의해 촉발된 CTV WSU 종양 세포의 사멸 및 T 세포 활성화를 예방하지 않지만, 12.5 nM 내지 100 nM 범위의 용량에서 CD20-TCB 유발 사이토킨 방출을 강하게 감소시켰다. 따라서, 룩소리티닙에 덧붙여, JAK 저해제 바리시티닙이 효능에 영향을 주지 않으면서 CD20-TCB 유발 사이토킨 방출을 완화하는 데 이용될 수 있었다.

[0340] **실시예 10. TCB 유발 종양 세포 사멸, T 세포 활성화 및 사이토킨 방출에 대한 JAK 저해제 바리시티닙의 효과는 JAK 저해제 룩소리티닙과 비슷하다.**

[0341] TCB 유발 사이토킨 방출, T 세포 활성화 및 종양 세포 사멸에 대한 바리시티닙의 효과가 룩소리티닙의 효과와 비슷한지를 실증하기 위해, 우리는 확대 농도의 룩소리티닙 및 바리시티닙으로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), MKN45 NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 10와 1 nM CEA-TCB를 이용한 사멸 검정을 수행하였다. Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 72 시간 시점에, CEA-TCB 유발 T 세포 활성화에 대한 바리시티닙 및 룩소리티닙의 영향을 사정하기 위해, CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25의 발현이 유세포분석에 의해 계측되었다. 마지

막으로, 상층액이 검정 종결점 (72 시간)에서 수집되었고, 그리고 CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 바리시티닙 대 룩소리티닙의 효과를 사정하기 위해, 사이토킨이 Luminex에 의해 계측되었다. 사이토킨 저해의 백분율이 키나아제 저해제의 부재 시에 관찰된 사이토킨의 백분율로서 계산되었고, 그리고 CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 바리시티닙 및 룩소리티닙의 효과를 비교하는 것을 가능하게 하였다.

[0342] 바리시티닙 및 룩소리티닙 둘 모두 0 nM 및 100 nM 사이 범위의 확대 농도에서 1 nM CEA-TCB에 의해 유도된 MKN45 NLR 종양 세포의 사멸을 예방하지 않았다 (**도 55A** 및 **B**). 1 μM의 더 높은 농도에서, 바리시티닙 및 룩소리티닙 둘 모두 MKN45 NLR 종양 세포의 사멸을 부분적으로 예방하였다 (**도 55A** 및 **B**). 룩소리티닙과 비슷하게, 확대 농도의 바리시티닙은 CD4+ (**도 56A**) 및 CD8+ (**도 56B**) T 세포 상에서 CD25의 발현을 감소시켰는데, 이것은 CEA-TCB 유발 T 세포 활성화에 대한 바리시티닙의 효과가 룩소리티닙과 비슷하다는 것을 표시한다. IFN-γ, TNF-α, GM-CSF, IL-6 및 IL-8 수준 (**도 57A**, **C**, **D**, **E** 및 **F**)의 저해 정도는 확대 농도의 룩소리티닙 및 바리시티닙에 대해 유사하였다. 룩소리티닙으로 관찰된 것과 일관하게, 확대 농도의 바리시티닙은 IL-2를 감소시키지 않았다 (**도 57B**).

[0343] 다른 TCB인 MAGEA4-TCB를 이용하여, 바리시티닙 대 룩소리티닙의 비교가 수행되었다. CEA-TCB와 유사하게, 0 nM 내지 100 nM 범위의 확대 농도의 룩소리티닙 및 바리시티닙으로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), A375 NucLight Red (NLR) 표적 세포 및 25 nM MAGEA4-TCB를 이용한 사멸 검정이 수행되었다. Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. MAGEA4-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 바리시티닙 대 룩소리티닙의 효과를 사정하기 위해, 검정 종결점 (72 시간)에 수집된 상층액에서 사이토킨이 Luminex에 의해 계측되었다.

[0344] CEA-TCB로 산출된 데이터와 일관하게, MAGEA4-TCB 유발 종양 세포 사멸에 대한 바리시티닙 (**도 58A**)의 효과는 0 nM 내지 100 nM 범위의 확대 농도에서 룩소리티닙 (**도 58B**)과 비슷하였다. 이에 더하여, MAGEA4-TCB 유발 GM-CSF, IL-2, IFN-γ, IL-2, TNF-α, IL-1β 및 IL-6 방출에 대한 바리시티닙 (**도 59A-F**)의 효과 또한, 0 nM 내지 100 nM 범위의 농도에서 룩소리티닙 (**도 60A-F**)과 비슷하다.

[0345] 요약하면, CEA-TCB와 MAGEA4-TCB 유발 종양 세포 사멸, T 세포 활성화 및 사이토킨 방출에 대한 바리시티닙의 효과는 룩소리티닙의 효과와 비슷하다. 따라서, 룩소리티닙에 덧붙여, 바리시티닙이 TCB 유발 사이토킨 방출의 완화를 위한 매력적인 접근방식을 나타낸다.

[0346] **실시예 11. JAK 저해제 룩소리티닙 및 mTOR 저해제 시로리무스는 CAR-T 세포 유발 사이토킨 방출을 예방한다.**

[0347] CAR-T 세포에 의해 유도된 사이토킨 방출에 대한 JAK 저해제 룩소리티닙 및 mTOR 저해제 시로리무스의 영향을 사정하기 위해, 우리는 PGLALA 및 CD16 보편적 CAR-T 세포 (항-P329G-Fc scFv (PGLALA Fc에 결합) 또는 CD16 (야생형 Fc에 결합)을 포함하는 CAR을 갖는 CAR-T 세포)가 100 nM 룩소리티닙 또는 100 nM 시로리무스로 보충된 배지에서 확대 농도의 PGLALA Fc 및 야생형 Fc 항-CD20 IgG의 존재에서 CTV WSU 종양 세포와 공동배양되는 사멸 검정을 수행하였다. 룩소리티닙 및 시로리무스가 CAR-T 세포에 의한 종양 세포 사멸을 간섭하는지를 실증하기 위해, 우리는 24 시간 시점에 유세포분석에 의해 CTV WSU 종양 세포의 사멸을 계측하였다. 룩소리티닙 및 시로리무스가 CAR-T 세포에 의해 유도된 사이토킨 방출을 감소시키는지를 실증하기 위해, 72 시간 시점에 검정의 상층액에서 사이토킨이 Luminex에 의해 계측되었다.

[0348] 결과로써, 시로리무스 및 룩소리티닙 중 어느 것도 PGLALA (**도 61A**) 및 CD16 (**도 61B**) CAR-T 세포에 의한 종양 세포 사멸을 예방하지 않았다. PGLALA (**도 62**) 및 CD16 (**도 63**) CAR-T 세포 둘 모두의 경우에, 룩소리티닙은 TCB를 이용한 조사 결과와 일관하게, IFN-γ (**도 62B** 및 **63B**), TNF-α (**도 62D** 및 **63D**) 및 GM-CSF (**도 62A** 및 **63A**)의 방출을 감소시키지만, IL-2 (**도 62C** 및 **63C**)은 그렇지 않았다. 최종적으로, 시로리무스는 검사된 모든 사이토킨, 다시 말하면 IFN-γ (**도 62B** 및 **63B**), TNF-α (**도 62D** 및 **63D**), GM-CSF (**도 62A** 및 **63A**) 및 IL-2 (**도 62C** 및 **63C**)의 방출을 강하게 감소시켰다.

[0349] 전반적으로, 본 데이터는 JAK1/2 저해제 룩소리티닙 및 mTOR 저해제 시로리무스가 CAR-T 세포 효능에 영향을 주지 않으면서, CAR-T 세포에 의해 유도된 사이토킨 방출을 예방하기 위한 매력적인 접근방식이 될 수 있었다는 것을 암시한다.

[0350] **실시예 12. mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스, 그리고 JAK 저해제 룩소리티닙은 CD19-TCB 의존성 사멸 및 T 세포 활성화를 예방하지 않지만, 사이토킨 방출을 강하게 감소시킨다.**

[0351] TCB 유발 T 세포 세포독성, T 세포 활성화 및 사이토킨 방출에 대한 mTOR 저해제 시로리무스, 에베로리무스 및 템시로리무스, 그리고 JAK1/2 저해제 룩소리티닙의 효과가 다른 TCB인 CD19-TCB (서열 번호 5, 7-9, 11, 64-

74, 76-78, 80)를 이용하여 사정되었다. PBMC가 Src 저해제 다사티닙을 또한 포함하는 상이한 키나아제 저해제의 존재에서, CellTrace™ Violet (CTV) 표지화된 SUDLH-8 종양 세포 및 확대 농도의 CD19-TCB와 함께 공동배양되었다 (**도 64**). 검정 종결점 (24 시간)에서, CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 사멸이 Live/Dead 염색제를 이용한 죽은 SUDLH-8 세포의 배제에 의한 유세포분석에 의해 계측되었다. CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 또한, T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다. 마지막으로, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 mTOR, JAK 및 Src 저해제의 효과를 평가하기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 계측되었다.

[0352] 결과로써, Src 저해제 다사티닙과 달리, mTOR 및 JAK 저해제는 CD19-TCB 의존성 SUDLH-8 사멸을 예방하지 않았다 (**도 65A**, **도 66**). 사멸에 대한 효과와 일관하게, mTOR 및 JAK 저해제는 Src 저해제 다사티닙과는 대조적으로, CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현을 차단하지 않았다 (**도 65B-E**, **도 67**). 최종적으로, JAK1/2 저해제 룩소리티닙은 CD19-TCB 유발 IFN-γ, TNF-α, IL-6 및 GM-CSF 방출, 그리고 정도가 덜하긴 하지만 IL-2 방출을 예방하는 반면, mTOR 저해제는 4가지 사이토킨 모두의 방출을 강하게 감소시켰다 (**도 68**).

[0353] 전반적으로, mTOR, JAK 및 Src 저해제의 차별적 활성은 CD19-TCB 유발 T 세포 세포독성 및 사이토킨 방출의 분리를 드러냈다. 이에 더하여, 이들 데이터는 mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스뿐만 아니라 JAK1/2 저해제 룩소리티닙이 종양 세포 사멸 및 T 세포 활성화를 예방하지 않으면서 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 완화할 수 있었다는 것을 암시한다. Src 저해제 다사티닙은 오히려, 사이토카인 방출 및 사멸 둘 모두를 차단하기 위해 T 세포 기능성의 스위치 오프가 필요한 종양 외 독성 또는 높은 등급 CRS에 대한 해독제로서 역할을 할 것이다.

[0354] **실시예 13. JAK 저해제 바리시티닙 및 토파시티닙은 CD19-TCB 유발 종양 세포 사멸, T 세포 활성화 및 사이토킨 방출에 대해 룩소리티닙과 비슷한 효과를 갖는다.**

[0355] CD19-TCB 유발 T 세포 세포독성, T 세포 활성화 및 사이토킨 방출에 대한 JAK 저해제 바리시티닙 및 토파시티닙의 효과를 룩소리티닙과 비교하기 위해, PBMC가 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 바리시티닙 및 100 nM 토파시티닙의 존재에서 CTV 표지화된 SUDLH-8 종양 세포 및 확대 농도의 CD19-TCB와 함께 공동배양되었다 (**도 69**). 검정 종결점 (24 시간)에서, CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 사멸이 Live/Dead 염색제를 이용한 죽은 SUDLH-8 세포의 배제에 의한 유세포분석에 의해 계측되었다. CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 또한, T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다. 마지막으로, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 JAK 저해제의 효과를 사정하기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 계측되었다.

[0356] 룩소리티닙과 유사하게, 바리시티닙 및 토파시티닙은 CTV 표지화된 SUDLH-8 종양 세포의 CD19-TCB 의존성 사멸을 예방하지 않았고 (**도 70**), CD4+ (**도 71A** 및 **B**) 및 CD8+ (**도 71C** 및 **D**) T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현도 예방하지 않았다. 이에 더하여, JAK 저해제 바리시티닙 및 토파시티닙은 룩소리티닙과 비슷하게, CD19-TCB 유발 IFN-γ, TNF-α, IL-6 및 GM-CSF 방출, 그리고 정도가 덜하긴 하지만 IL-2 방출을 예방하였다 (**도 72**). 바리시티닙 및 토파시티닙은 시험관내에서 T 세포 활성화 및 T 세포 세포독성을 차단하지 않으면서, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 예방하는 데에 룩소리티닙만큼 강력한 것으로 나타났다.

[0357] 최종적으로, 본 실험은 바리시티닙 및 토파시티닙이 룩소리티닙에 대한 대안으로서, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출의 완화를 위한 2가지의 추가 JAK 저해제를 나타낼 수 있었다는 것을 암시한다.

[0358] **실시예 14. 현재의 CRS 완화 접근방식과 JAK 저해제 룩소리티닙, mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스, 그리고 Src 저해제 다사티닙의 비교.**

[0359] JAK 및 mTOR 저해제의 이용이 TCB 유발 사이토킨 방출의 완화에 이용되는 현재의 접근방식과 비슷할 것인지를 실증하기 위해, 우리는 키나아제 저해제의 효과를 코르티코스테로이드 덱사메타손, 그리고 시험관내에서 항-TNF-α 및 항-IL-6R 항체의 이용과 비교하였다. 이런 이유로, PBMC가 mTOR, JAK 및 Src 저해제뿐만 아니라 덱사메타손, 항-TNF-α 항체 (aTNF-α; Biolegend #502922 (항체 Mab11)) 및 항-IL-6R 항체 (aIL-6R; Roche 인하우스)의 존재에서 CTV 표지화된 SUDLH-8 종양 세포 및 확대 농도의 CD19-TCB와 함께 공동배양되었다 (**도 73**). 검정 종결점 (24 시간)에서, CD19-TCB 의존성 사멸에 대한 상이한 완화 접근방식의 효과를 평가하기 위해, CTV 표지화된 SUDLH-8 세포의 사멸이 Live/Dead 염색제를 이용한 죽은 SUDLH-8 세포의 배제에 의한 유세포분석에 의해 계측되었다. 이후, CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 또한, T 세포 활성화에 대한 효과에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다. 마지막으로, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 JAK 저해제의

효과를 다루기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 계측되었다.

[0360] 덱사메타손, 항-TNF-α 항체 및 항-IL-6R 항체와 비슷하게, mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스뿐만 아니라 JAK1/2 저해제 룩소리티닙은 - Src 저해제 다사티닙과 달리, CTV SUDLH-8 세포의 CD19-TCB 의존성 사멸을 예방하지 않았다 (**도 74**). 이에 더하여, mTOR 및 JAK 저해제뿐만 아니라 덱사메타손, 항-TNF-α 및 항-IL-6R은, T 세포 활성화를 완전히 차단한 Src 저해제 다사티닙과는 대조적으로, CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 (**도 75A** 및 **C**, **도 76A** 및 **C**) 및 CD69 (**도 75B** 및 **D**, **도 76B** 및 **D**)의 발현을 예방하지 않았다. 마지막으로, CD19-TCB 유발 IFN-γ 및 TNF-α에 대한 mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스 및 JAK1/2 저해제 룩소리티닙의 효과는 덱사메타손의 효과와 비슷하였다 (**도 77**). CD19-TCB 유발 IL-2 및 GM-CSF에 대한 mTOR 저해제의 효과는 덱사메타손의 효과와 비슷한 반면, 이들 2개의 사이토킨에 대한 JAK1/2 저해제 룩소리티닙의 효과는 더 약했다 (**도 77**). CD19-TCB 유발 IFN-γ, IL-2, TNF-α 및 GM-CSF를 감소시키는 JAK 및 mTOR 저해제의 효과는 IFN-γ, IL-2, TNF-α 및 GM-CSF 수준을 단지 약간만 감소시키는 항-IL-6R 항체의 효과, 또는 TNF-α 및 정도가 덜하긴 하지만 IFN-γ, IL-2 및 GM-CSF를 특이적으로 감소시키는 항-TNF-α 항체의 효과보다 강했다. 최종적으로, Src 저해제 다사티닙은 사멸 및 T 세포 활성화의 저해와 상관하는 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출의 완전한 저해를 보여준다 (**도 77**).

[0361] 요약하면, 본 실험은 mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스뿐만 아니라 JAK1/2 저해제 룩소리티닙의 효과가, T 세포 세포독성 및 T 세포 활성화를 예방하지 않으면서 CD19-TCB 의존성 사이토킨 방출을 감소시키는 코르티코스테로이드 덱사메타손의 효과와 비슷하다는 것을 암시한다. 이에 더하여, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 mTOR 저해제 시로리무스, 템시로리무스 및 에베로리무스 및 JAK1/2 저해제 룩소리티닙의 효과는 IL-6R 및 TNF-α의 차단보다 강한 것으로 밝혀졌다. 종합하면, 본 데이터는 JAK 및 mTOR 저해제가 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출의 완화를 위한, 항-IL-6R 또는 항-TNF-α 항체 또는 심지어 코르티코스테로이드의 이용에 대한 대안적 접근방식을 나타낼 수 있었다는 것을 강조한다.

[0362] **실시예 15. 미리 활성화된 효과기 세포로부터 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 시로리무스 (예시적인 mTOR 저해제로서), 룩소리티닙 (예시적인 JAK 저해제로서) 및 다사티닙 (예시적인 Src 저해제로서)의 효과.**

[0363] mTOR 저해제 시로리무스, JAK1/2 저해제 룩소리티닙 및 Src 저해제 다사티닙이 CD19-TCB의 처리에 의해 유도된 사이토킨의 추가 방출을 예방할 수 있는지를 사정하기 위해, 이들이 24 시간의 활성화 후 시험관내 사멸 검정에서 추가되었다 (**도 78**). 이러한 검정에서 CTV 표지화된 NALM-6 종양 세포가 확대 용량의 CD19-TCB의 존재에서 24 시간 동안 PBMC와 공동배양되었다. 24 시간 시점에, 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 다사티닙이 시스템에 추가되었다. T 세포가 상이한 키나아제 저해제의 추가 전 활성화되었는지를 실증하기 위해, 종양 세포 사멸 및 사이토킨 방출이 24 시간 시점에 계측되었다 (**도 79** 및 **80**). 마지막으로, 사멸에 대한 효과와 비교하여 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 100 nM 룩소리티닙, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 다사티닙의 추가의 효과를 사정하기 위해, 사이토킨 방출 및 종양 세포 사멸이 48 시간 시점에 계측되었다.

[0364] 24 시간 시점에, CD19-TCB로 처리는 CTV 표지화된 NALM-6 종양 세포의 사멸 (**도 79**), 그리고 IFN-γ (**도 80A**), TNF-α (**도 80B**), IL-2 (**도 80C**) 및 IL-6 (**도 80D**)의 방출을 야기하였는데, 이것은 T 세포가 이들 키나아제 저해제의 추가 전 활성화되었다는 것을 표시하였다. 100 nM 룩소리티닙 또는 100 nM 시로리무스의 추가는 48 시간 시점에 계측된 CTV 표지화된 NALM-6 종양 세포 사멸 (**도 79**)을 예방하지 않았고, 반면 100 nM 다사티닙의 추가는 NALM-6 종양 세포의 사멸을 중간 정도로 감소시켰다. 하지만, 100 nM 시로리무스 또는 100 nM 다사티닙의 추가는 24 시간 및 48 시간 사이에 IFN-γ, TNF-α, IL-2 및 IL-6의 추가 방출을 예방하였고 (**도 80**), 반면 100 nM 룩소리티닙의 추가만 IFN-γ, TNF-α 및 IL-6, 그리고 정도가 덜하긴 하지만 IL-2의 추가 방출을 예방하였다 (**도 80**).

[0365] 전반적으로, 본 실험은 mTOR 저해제 시로리무스뿐만 아니라 JAK1/2 저해제 룩소리티닙이 CD19-TCB 효능에 영향을 주지 않으면서, 미리 활성화된 효과기 세포로부터 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 신속하게 중단시킬 수 있다는 것을 암시한다. 다른 한편으로, Src 저해제 다사티닙이 CD19-TCB 유발 T 세포 세포독성을 또한 감소시키면서, 미리 활성화된 효과기 세포로부터 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 신속하게 차단할 수 있다.

[0366] **실시예 16. 인간화 NSG 생쥐에서 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 감소시키는 JAK 저해제 룩소리티닙, Src 저해제 다사티닙 및 mTOR 저해제 시로리무스의 효과는 코르티코스테로이드 덱사메타손 및 메틸프레드니솔론의 효과 및 오비누투주맙으로 전처리와 비슷하다.**

[0367] CD19-TCB 유발 사이토킨 방출 대 B 세포 고갈에 대한 JAK1/2 저해제 룩소리티닙, mTOR 저해제 시로리무스, Src

저해제 다사티닙, 오비누투주맙 (Gazyva®)으로 전처리, 그리고 코르티코스테로이드 덱사메타손 및 메틸프레드니솔론의 효과가 생체내에서 평가되었다. 이런 이유로, 인간화 NSG 생쥐가 오비누투주맙 (Gazyva®)으로 전처리되고, 이후 0.5 mg/kg CD19-TCB로 처리되거나, 또는 0.5 mg/kg CD19-TCB 및 (i) 4 x 5 mg/kg 시로리무스, (ii) 6 x 30 mg/kg 룩소리티닙, (iii) 6 x 50 mg/kg 다사티닙, (iv) 2 x 1 mg/kg, 1 x 0.5 mg/kg 및 1 x 0.25 mg/kg 덱사메타손, 또는 (v) 2 x 10 mg/kg, 1 x 5 mg/kg 및 1 x 2.5 mg/kg 메틸프레드니솔론으로 동시처리되었다 (**도 81**). 임상에서 룩소리티닙, 다사티닙 및 시로리무스의 약력학적 프로필을 가장 잘 재현하고, 그리고 결과적인 노출이 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 예방하는 데 충분할 것인지를 실증하기 위해, 다사티닙 및 룩소리티닙이 하루 2회 경구 제공되었고, 그리고 시로리무스가 1일 자에 하루 2회, 이후 하루 1 회 경구 제공되었다.

[0368] 48 시간 및 72 시간 시점에, 혈액이 꼬리-정맥 채혈에 의해 수집되었고, 그리고 CD19-TCB 유발 B 세포 고갈에 대한 상이한 처리의 효과를 사정하기 위해 CD20+ B 세포 수가 유세포분석에 의해 계측되었다 (**도 82A** 및 **B**). 48 시간 및 72 시간 시점에, 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리 (GpT), 그 이후에 CD19-TCB 처리의 효과는 CD19-TCB 단독으로 처리와 유사하게, B 세포의 완전한 고갈을 야기한다. 다른 한편으로, 룩소리티닙 (ruxo) 및 시로리무스 (siro)는 덱사메타손 (dexa) 및 메틸프레드니솔론 (MP)과 유사하게, Src 저해제 다사티닙 (dasa)보다 더 온화한 저해 효과로 B 세포 고갈을 약간 예방하였고, CD19-TCB 효능을 완전히 예방하지는 못하였다 (**도 82A**). 72 시간 시점에, 룩소리티닙 및 시로리무스의 효과는 덱사메타손의 효과와 비슷하지만, B 세포 고갈을 예방하는 데 메틸프레드니솔론보다 강한 것으로 나타났는데 (**도 82B**), CD19-TCB의 활성에 대한 작은 저해 효과를 표시한다. 72 시간 시점에, 다사티닙은 B 세포 고갈을 더 이상 완전히 차단하지는 못하였다. 다사티닙의 반감기가 대략 6-7 시간이고 다사티닙이 단지 하루 2회 제공된다는 점을 고려하면, 노출의 결여는 CD19-TCB가 부분적으로 활성이고, B 세포 고갈을 야기한다는 것을 아마도 설명할 수 있었다. 실험 종료 (72 시간) 시점에, 비장이 수집되었고, 그리고 B 세포 수가 유세포분석에 의해 계측되었다 (**도 83**). 혈액에서 관찰 결과와 일관하게, 룩소리티닙 및 시로리무스는 덱사메타손과 비슷하게, CD19-TCB 유발 CD20+ B 세포 고갈을 단지 부분적으로만 예방하였다. 하지만, 이들의 저해 효과는 메틸프레드니솔론보다 강했다 (**도 83**). 72 시간 시점에, 다사티닙은 아마도 노출의 결여로 인해, 비장에서 CD20+ B 세포 고갈을 예방하지 않았다 (**도 83**). 예상한 바와 같이, 오비누투주맙 (Gazyva®)으로 전처리는 이들 2가지 고갈성 항체의 이중 활성으로 인해, CD20+ B 세포의 완전한 고갈을 야기한다 (**도 83**).

[0369] 최종적으로, CD19-TCB로 처리 6 시간후 혈청이 혈액으로부터 수집되었고, 그리고 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 상이한 처리의 효과를 사정하기 위해, 사이토킨 수준이 Luminex에 의해 계측되었다 (**도 84**). CD19-TCB 유발 IFN-γ (**도 84A**) 및 IL-6 방출 (**도 84D**)에 대한 시로리무스, 룩소리티닙, 덱사메타손 및 메틸프레드니솔론의 효과는 오비누투주맙 (Gazyva®)으로 전처리와 비슷하였다. CD19-TCB 유발 IL-2 (**도 84B**) 및 TNF-α (**도 84C**)에 대한 시로리무스, 덱사메타손 및 메틸프레드니솔론의 효과는 가지바로 전처리와 비슷하였다. 하지만, 룩소리티닙의 효과는 IL-2 및 TNF-α를 감소시키는 데 약간 더 약한 것으로 나타났다. 전반적으로, mTOR 및 JAK 저해제의 효과는 IL-2 및 TNF-α 방출에 대한 룩소리티닙의 더 온화한 효과로, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 감소시키는 데에 코르티코스테로이드 덱사메타손 및 메틸프레드니솔론의 효과 및 오비누투주맙 (Gazyva®)으로 전처리와 비슷한 것으로 밝혀졌다.

[0370] 시험관내 조사 결과와 일관하게, 룩소리티닙 또는 시로리무스 및 CD19-TCB로 공동처리는 덱사메타손 및 메틸프레드니솔론과 유사하게, B 세포 고갈을 완전히 예방하지 않으면서, 인간화 NSG 생쥐에서 CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 제어하는 것을 가능하게 하였다. 이에 더하여, CD19-TCB 유발 사이토킨 방출을 예방하는 룩소리티닙, 시로리무스, 덱사메타손 및 메틸프레드니솔론의 효과는 오비누투주맙 (Gazyva®)으로 전처리와 비슷하였으며, 다만 후자가 더 강한 B 세포 고갈을 유도하였다.

[0371] **실시예 17. JAK 저해제 페드라티닙은 TCB 매개 표적 세포 사멸에 대한 영향을 최소로 하면서, CEA-TCB 매개 사이토킨 방출을 예방한다.**

[0372] TCB 매개 표적 세포 사멸, T 세포 활성화 및 사이토킨 방출에 대한 다른 JAK 저해제인 페드라티닙의 효과를 사정하기 위해, 우리는 확대 농도의 페드라티닙으로 보충된 배지에서 말초혈 단핵 세포 (PBMC), NucLight Red (NLR) MKN45 종양 세포 및 10 nM CEA-TCB를 이용한 사멸 검정을 수행하였다. Incucyte® 시스템 (Essen Bioscience)이 표적 세포 사멸의 판독으로서 시간의 추이에서 적색 형광 단백질 신호의 손실을 포착하는 데 이용되었다. 12.5 nM 내지 1 μM 범위의 용량의 페드라티닙은 10 nM CEA-TCB에 의한 MKN45 NLR 표적 세포 사멸을 단지 부분적으로만 감소시켰으며, 1 μM 미만의 용량은 단지 작은 효과만을 나타낸다 (**도 85**).

[0373] 검정 종결점 (72 시간)에서, 살아있는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현이 T 세포 활성화에 대한 판독으로서 유세포분석에 의해 계측되었다. 페드라티닙은 1 μM 미만의 농도에서 CD4+ T 세포 (**도 86A, B**) 및 CD8+ T 세포 (**도 86C, D**) 상에서 CD69 및 CD25의 발현에 영향을 주지 않았다.

[0374] CEA-TCB 유발 사이토킨 방출에 대한 페드라티닙의 효과를 결정하기 위해, 검정의 상층액에서 사이토킨의 수준이 Luminex에 의해 계측되었다. 50 nM 내지 1 μM 범위의 농도의 페드라티닙의 존재에서, IFN-γ, IL-2, TNF-α, IL-6 및 IL-8의 수준이 감소되었다 (**도 87**).

[0375] 전반적으로, 본 데이터는 페드라티닙이 T 세포 세포독성 및 T 세포 활성화를 예방하지 않으면서, CEA-TCB 유발 사이토킨 방출을 감소시킨다는 것을 암시한다.

[0376] **실시예 18. mTOR 및 JAK 저해제는 림프종 PDX 보유 생쥐에서 CD19-TCB 항종양 활성을 억제하지 않는다.**

[0377] CD19-TCB 항종양 활성에 대한 Src 저해, 덱사메타손, 또는 오비누투주맙 (GpT)으로 전처리와 비교하여 mTOR 및 JAK 저해의 영향을 평가하기 위해, 우리는 인간화 NSG 생쥐에서 림프종 환자 유래 이종이식 (PDX) 모형을 이용하였다. 먼저, 우리는 사멸 검정을 이용하여, PDX 세포가 시험관내에서 CD19-TCB로 처리 시에 사멸되는지를 실증하였다. 림프종 PDX 세포가 CD19-TCB의 존재에서 PBMC와 함께 공동배양되었다 (E:T=10:1). 이들 림프종 PDX 세포는 시험관내에서 CD19-TCB에 의해 효율적으로 고갈되어 (**도 88A**), CD4+ 및 CD8+ T 세포 상에서 CD25 및 CD69의 발현에 의해 나타난 바와 같이 T 세포 활성화가 야기되었다 (**도 88 B-E**). 이후, PDX 보유 생쥐는 운반제, 시로리무스 (5 mg/kg), 룩소리티닙 (30 mg/kg), 다사티닙 (20 mg/kg), 단독으로 또는 CD19-TCB (0.5 mg/kg)와 조합으로 덱사메타손 (2회 1 mg/kg, 0.5 mg/kg, 4회 0.25 mg/kg), 단일요법으로서 또는 오비누투주맙 전처리 (GpT) (30 mg/kg)와 조합으로 CD19-TCB (0.5 mg/kg) 중 어느 한 가지로 처리되었다. 이들 상이한 키나아제 저해제 및 덱사메타손은 첫 번째 주입 시에 지배적으로 발생하는 사이토킨 방출을 억제하기 위해, CD19-TCB로 일차 처리 1 시간 전에 제공되고, 이후 3일 동안 하루 1회 또는 2회 제공되었다 (**도 89**). 게다가, 이들은 잔류 사이토킨 분비를 예방하기 위해, 각 후속 처리 1 시간 전에 또한 투여되었다 (**도 89**). 단일 작용제로서 제공된 덱사메타손 및 시로리무스 둘 모두 종양 성장에서 감소를 유도하지만 유의미하지는 않았다 (**도 90** 및 **93**). CD19-TCB와 조합될 때, 그 결과로 나타나는 항종양 활성은 CD19-TCB 단독과 비슷하지만, 시로리무스 및 덱사메타손은 첫 번째 주입 시에 IL-2, IFN-γ, TNF-α 및 IL-6 방출을 억제하였다 (**도 90**, **93** 및 **94**). 유사하게, 룩소리티닙으로 공동처리는 CD19-TCB 항종양 활성을 최소한도로 간섭하고, 그리고 IL-6 및 정도가 덜하긴 하지만 IFN-γ, TNF-α 및 IL-2 방출을 감소시켰다 (**도 91** 및 **94**). 사이토킨 수준에 대한 룩소리티닙, 시로리무스 및 덱사메타손의 효과는 오비누투주맙 전처리의 효과보다 강한 것으로 나타났고, 반면 항종양 효능에 대한 그들의 효과는 유사하다 (**도 90**, **91**, **93** 및 **94**). 또한 다사티닙은 첫 번째 주입 시에 T 세포 유래 사이토킨 (IFN-γ, TNF-α, IL-2 및 IL-6)을 강하게 감소시키면서 CD19-TCB 항종양 효능을 유의미하게 억제하지 않았다. 이것은 다사티닙의 저해 효과가 가역적이기 때문에 본 실험에서 다사티닙의 일시적인 이용이 CD19-TCB 유발 T 세포 세포독성을 연속적으로 차단하지 못했다는 것을 암시한다 (**도 92** 및 **94**).

[0378] 종합하면, 본 데이터는 JAK 저해제 룩소리티닙 및 mTOR 저해제 시로리무스의 일시적인 이용이 CD19-TCB의 첫 번째 주입 시에 T 세포 매개 사이토킨 방출을 억제하면서 항종양 효능을 손상시키지 않았다는 것을 증명하고, TCB 관련 CRS의 완화를 위한 이들 화합물의 이용을 뒷받침한다.

[0379] **실시예 19. 비종양 보유 인간화 NSG 생쥐에서 CD20-TCB 유발 사이토킨 방출 및 B 세포 고갈에 대한 룩소리티닙 (JAK1/2 저해제), mTOR 저해제 (시로리무스, 에베로리무스, 템시로리무스) 및 다사티닙 (Src 저해제)의 효과.**

[0380] 본 실험에서, 우리는 인간화 NSG 생쥐에서 소형 분자 키나아제 저해제의 짧은 PK/PD 특성의 CD20-TCB의 긴 PK/PD 특성과의 생체내 조합이 사이토킨 방출을 효율적으로 차단하는지를 실증하였다. 추가적으로, 우리는 또한, 말초혈에서 CD19+ B 세포를 계측함으로써, Src 저해제 다사티닙과 비교하여 CD20-TCB 매개 B 세포 고갈에 대한 JAK 및 mTOR 저해제의 효과를 사정하였다.

[0381] 인간화 NSG 생쥐가 **도 95**에서 설명된 바와 같이, 단독으로, 또는 mTOR 저해제 (시로리무스, 템시로리무스, 에베로리무스), JAK 저해제 (룩소리티닙), Src 저해제 (다사티닙)와 조합으로, 또는 오비누투주맙 (Gazyva®)으로 전처리된 0.15 mg/kg CD20-TCB로 처리되었다. B 세포 고갈을 최소한도로 간섭하면서 CD20-TCB 유발 사이토킨 방출을 감소시키는 최적 용량을 결정하기 위해, 상이한 용량의 mTOR, JAK 및 Src 키나아제 저해제가 검사되었다. 시로리무스의 경우에 2, 5 및 10 mg/kg의 용량이 검사되었고, 그리고 다른 mTOR 저해제 템시로리무스 및 에베로리무스의 경우에 10 mg/kg의 가장 높은 용량만 이용되었다. 룩소리티닙의 경우에 30 및 60 mg/kg의 용량이 검사되었고, 그리고 다사티닙의 경우에 10 및 50 mg/kg의 용량이 검사되었다. 임상적 투여 루트를 재현하기 위해, 이

들 상이한 키나아제 저해제는 **도 95**에서 묘사된 바와 같이, 하루 1회 또는 2회 경구 (p.o.) 제공되었다. Luminex에 의한 사이토킨 수준 계측을 위한 혈청을 수집하기 위해, 생쥐가 CD20-TCB (**도 95**)로 처리 후 4 시간 및 24 시간 시점에 채혈되었다. 추가적으로, 유세포분석에 의해 인간 CD45+ 세포 사이에서 CD19+ B 세포의 백분율을 계측하기 위해, 혈액이 CD20-TCB로 처리후 48 시간 및 72 시간 (종료) 시점에 수집되었다 (**도 95**).

[0382] 결과로써, 2, 5, 10 mg/kg 시로리무스, 10 mg/kg 에베로리무스 또는 10 mg/kg 템시로리무스 (mTOR 저해제)로 공동처리는 말초혈 내에 인간 CD45+ 세포 사이에서 CD19+ B 세포의 백분율에 의해 표시된 바와 같이, CD20-TCB에 의해 유도된 B 세포 고갈을 간섭하지 않았다 (**도 96A-C**). 하지만, mTOR 저해제는 IFN-γ (**도 97 A, B**), IL-2 (**도 98 A, B**), TNF-α (**도 99 A, B**), IL-6 (**도 100 A, B**), IP-10 (**도 101 A, B**), MCP-1 (**도 102 A, B**), IL-8 (**도 103 A, B**) 및 GM-CSF (**도 104 A, B**)의 수준에 의해 나타난 바와 같이, CD20-TCB 유발 사이토킨 방출을 영속적으로 감소시켰다. 게다가, 이러한 모형에서 mTOR 저해제에 의한 사이토킨 방출의 감소가 다사티닙 및 오비누투주맙 (Gazyva®) 전처리와 비슷하였다 (**도 97-104**). 전반적으로, mTOR 저해제는 48 시간까지 TCB 활성을 차단한 Src 저해제 다사티닙과 달리, 2 내지 10 mg/kg 범위의 용량에서 B 세포 고갈을 유지하면서 CD20-TCB 매개 사이토킨 방출을 강하게 감소시켰다.

[0383] 30 및 50 mg/kg의 룩소리티닙 (JAK1/2 저해제)으로 공동처리는 말초혈 내에 인간 CD45+ 세포 사이에서 CD19+ B 세포의 백분율에 의해 표시된 바와 같이, CD20-TCB에 의해 유도된 B 세포 고갈을 약간 간섭하였다 (**도 96A-C**). B 세포 고갈에 대한 저해 효과는 룩소리티닙의 용량에 의존하는 것으로 보인다. 게다가, 룩소리티닙은 IFN-γ (**도 97 A, B**), IL-2 (**도 98 A, B**), TNF-α (**도 99 A, B**), IL-6 (**도 100 A, B**), IP-10 (**도 101 A, B**), MCP-1 (**도 102 A, B**), IL-8 (**도 103 A, B**) 및 GM-CSF (**도 104 A, B**)의 수준에 의해 나타난 바와 같이, IL-2 및 GM-CSF 방출을 제외한, CD20-TCB 매개 사이토킨 방출을 영속적으로 감소시켰다. 전반적으로, JAK1/2 저해제 룩소리티닙으로 공동처리는 48 시간까지 TCB 활성을 완전히 차단한 Src 저해제 다사티닙과 달리, 30 내지 60 mg/kg 범위의 용량에서 B 세포 고갈을 최소한도로 예방하면서, IL-2 및 GM-CSF을 제외한, CD20-TCB 매개 사이토킨 방출을 감소시켰다.

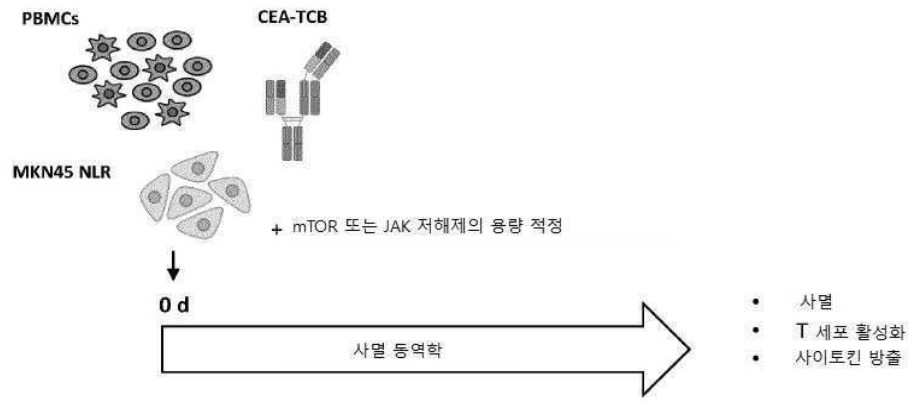
[0384] 요약하면, 본 데이터는 시험관내 관찰 결과와 일관하게, mTOR 및 JAK 저해제의 CD20-TCB와의 조합이 인간화 NSG에서 사이토킨 방출을 감소시켰다는 것을 증명한다. JAK 저해제 (룩소리티닙) 및 mTOR 저해제 (시로리무스, 에베로리무스 및 템시로리무스)는 Src 저해제 다사티닙과는 대조적으로, CD20-TCB 매개 B 세포 고갈을 최소한도로 간섭하였다. 이것은 이들이 항종양 효능을 유지하면서, CD20-TCB로 첫 번째 주입 시에 사이토킨 방출을 예방하기 위한 유망한 접근방식을 나타낼 수 있었다는 것을 암시한다.

[0385] * * *

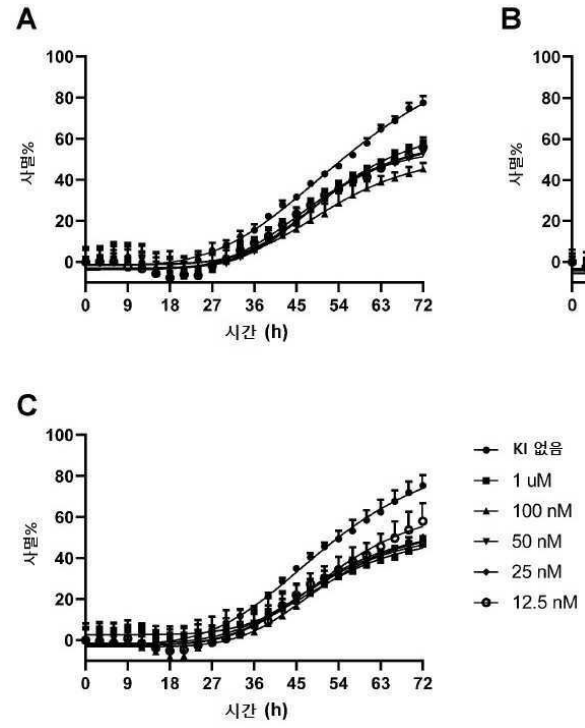
[0386] 비록 전술된 발명이 이해의 명료함을 위해 예시와 실례로서 일부 상세하게 설명되긴 했지만, 이들 설명과 실례는 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본원에서 인용된 모든 특허와 과학 문헌의 개시는 명시적으로 온전히 참조로서 편입된다.

도면

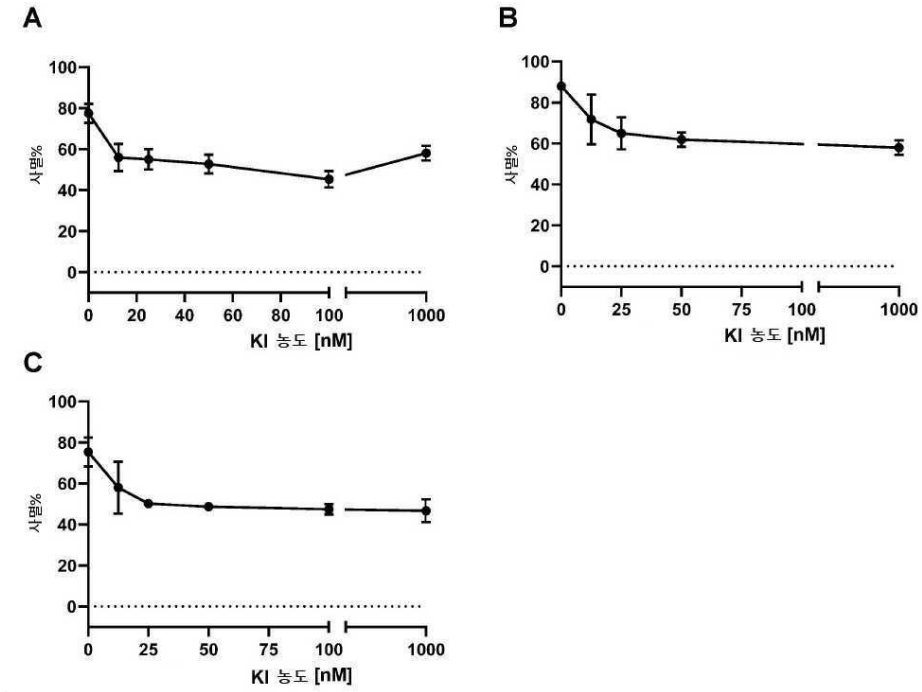
도면1



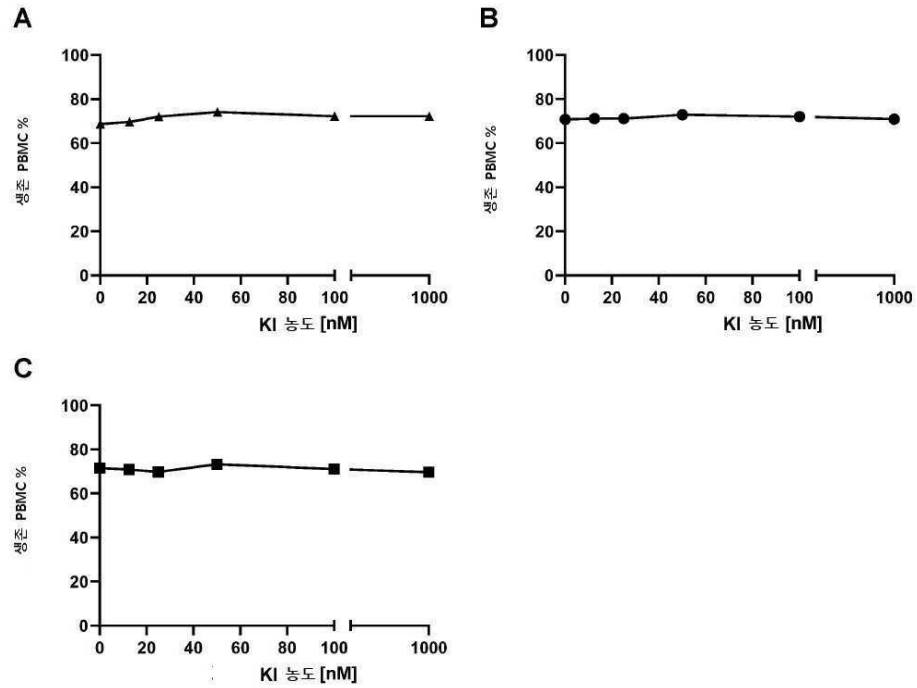
도면2



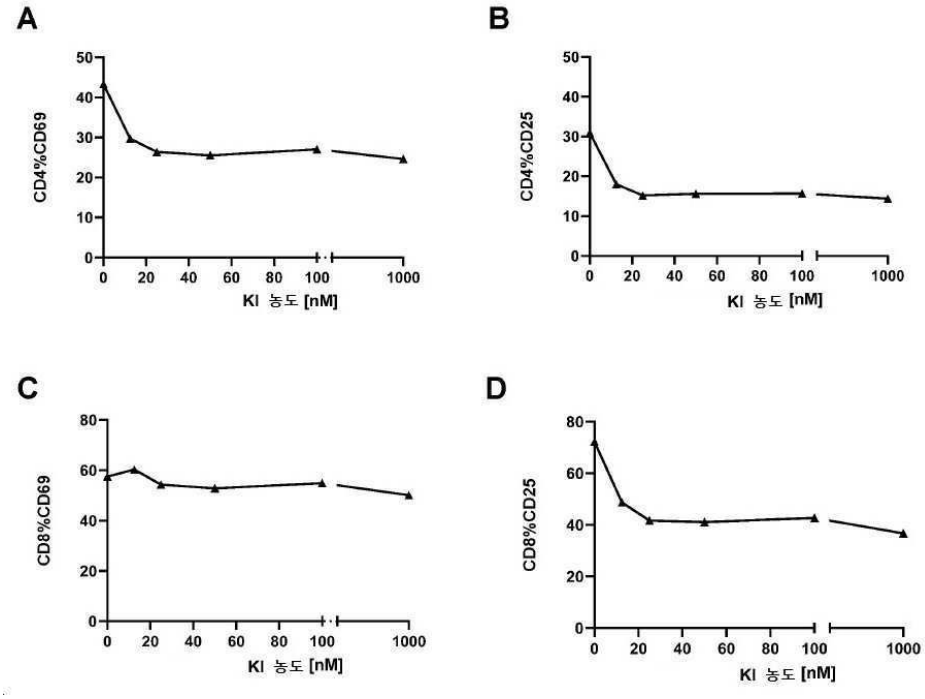
도면3



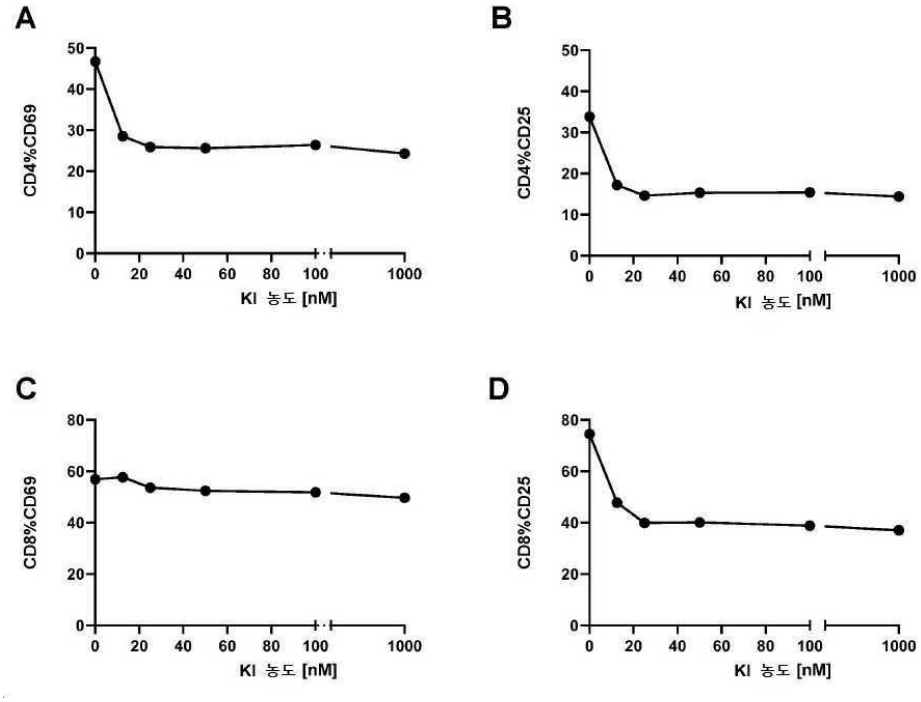
도면4


A
B
C
생존 PBMC %
KI 농도 [nM]
0
20
40
60
80
100
1000

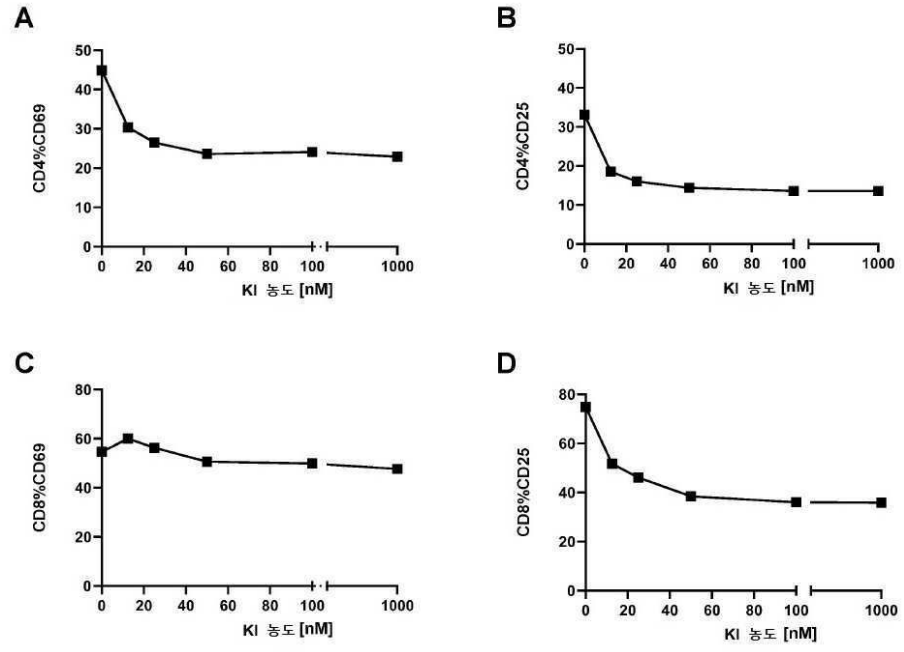
도면5


A
B
C
D
CD4%CD69
CD4%CD25
CD8%CD69
CD8%CD25
KI 농도 [nM]
0
20
40
60
80
100
1000

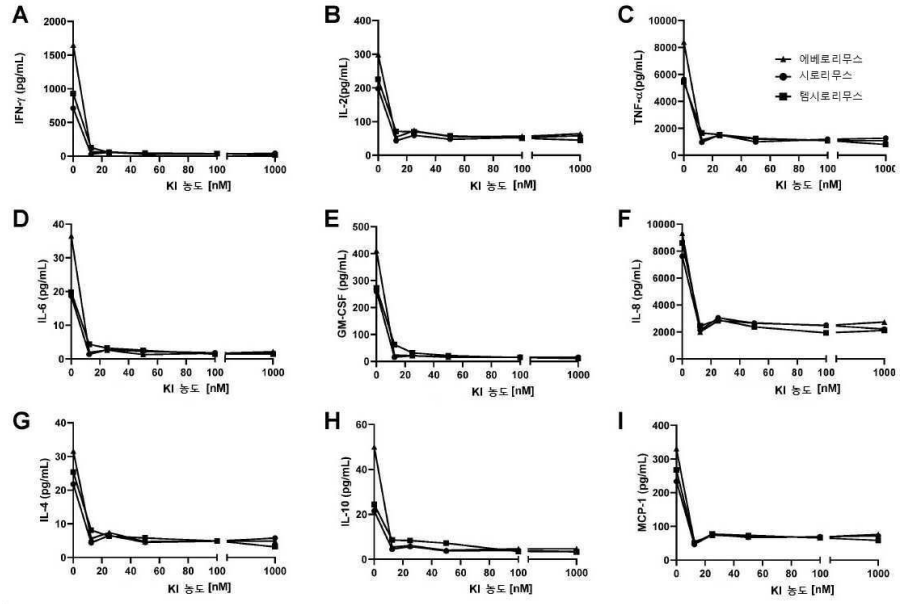
도면6


A
CD4%CD69
KI 농도 [nM]
B
CD4%CD25
KI 농도 [nM]
C
CD8%CD69
KI 농도 [nM]
D
CD8%CD25
KI 농도 [nM]

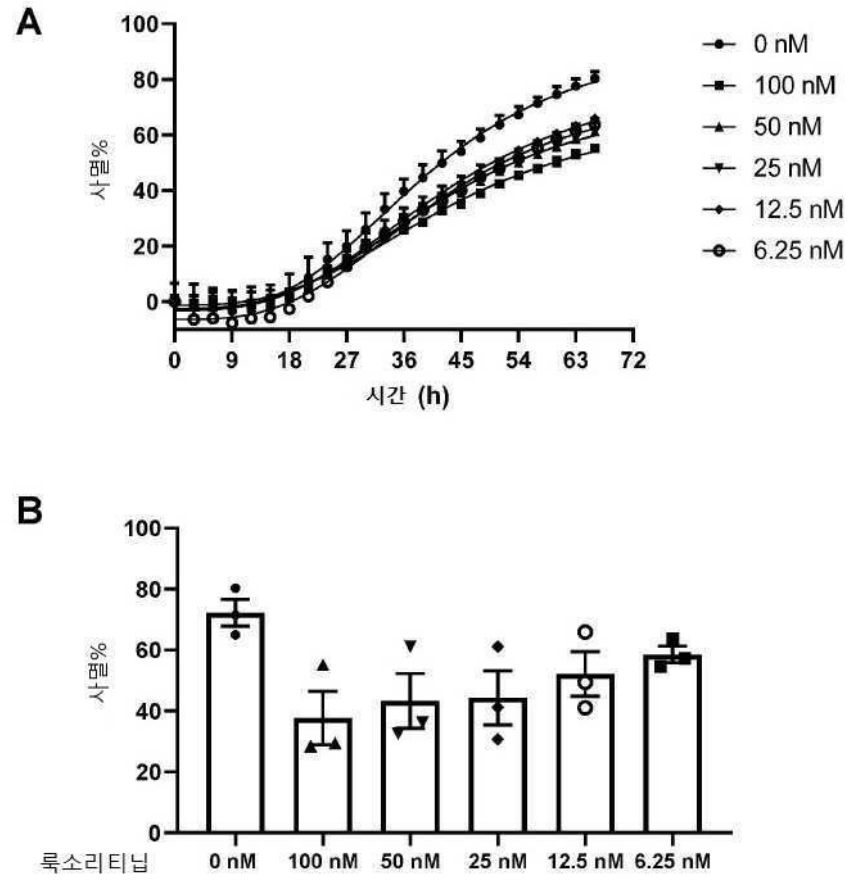
도면7


A
CD4%CD69
KI 농도 [nM]
B
CD4%CD25
KI 농도 [nM]
C
CD8%CD69
KI 농도 [nM]
D
CD8%CD25
KI 농도 [nM]

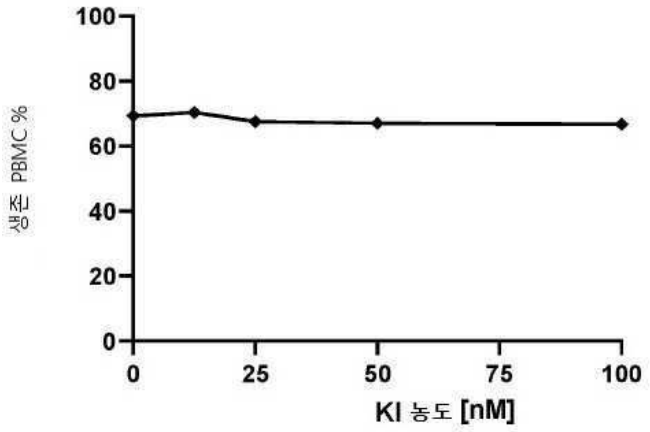
도면8


A
IFN-γ (pg/mL)
B
IL-2(pg/mL)
C
TNF-α(pg/mL)
에베로리무스
시로리무스
템시로리무스
D
IL-6 (pg/mL)
E
GM-CSF (pg/mL)
F
IL-8 (pg/mL)
G
IL-4 (pg/mL)
H
IL-10 (pg/mL)
I
MCP-1 (pg/mL)
KI 농도 [nM]

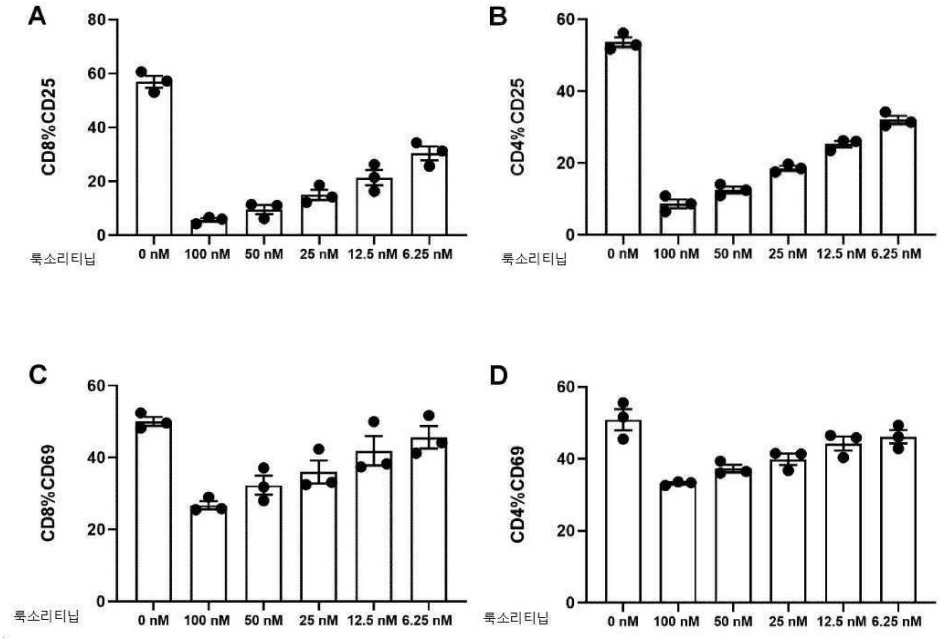
도면9


A
사멸%
시간 (h)
0 nM
100 nM
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.25 nM
B
사멸%
룩소리티닙
0 nM
100 nM
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.25 nM

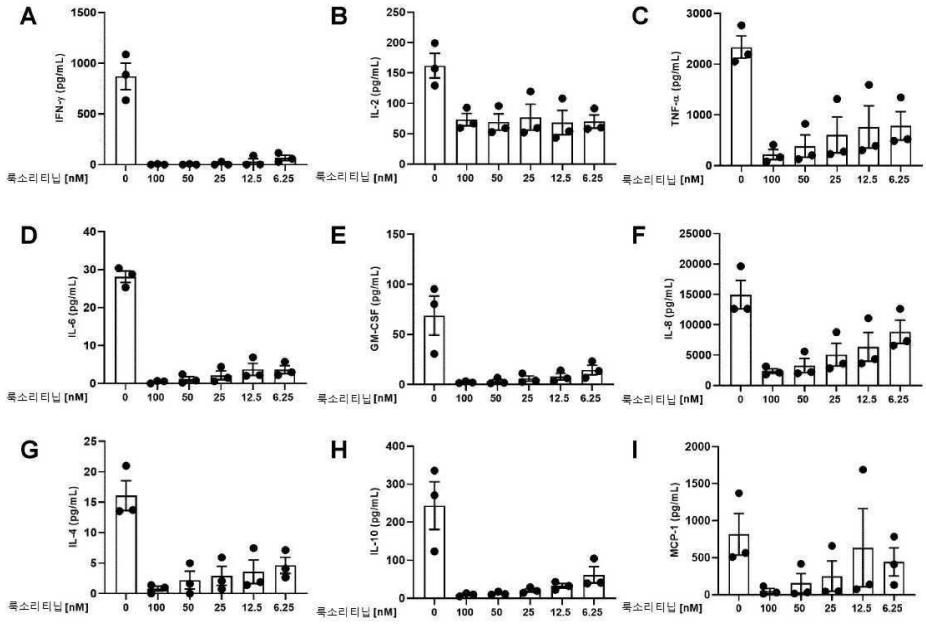
도면10


생존 PBMC %
100
80
60
40
20
0
0
25
50
75
100
KI 농도 [nM]

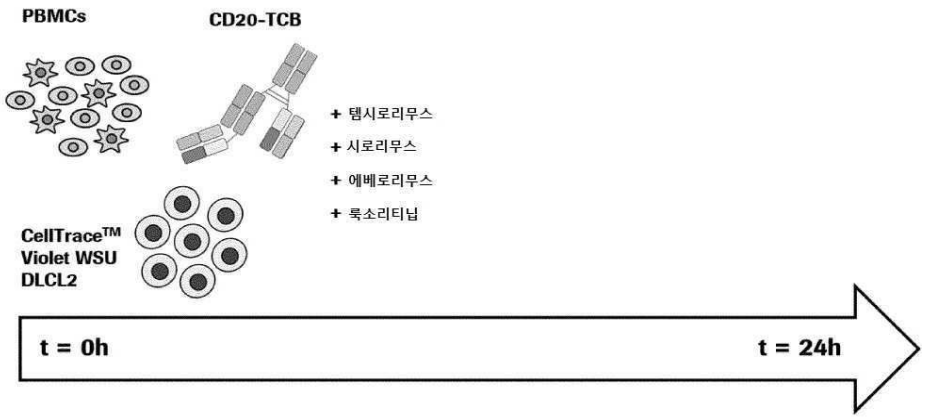
도면11


A
CD8%CD25
룩소리티닙
0 nM
100 nM
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.25 nM
B
CD4% CD25
룩소리티닙
C
CD8%CD69
룩소리티닙
D
CD4%CD69
룩소리티닙

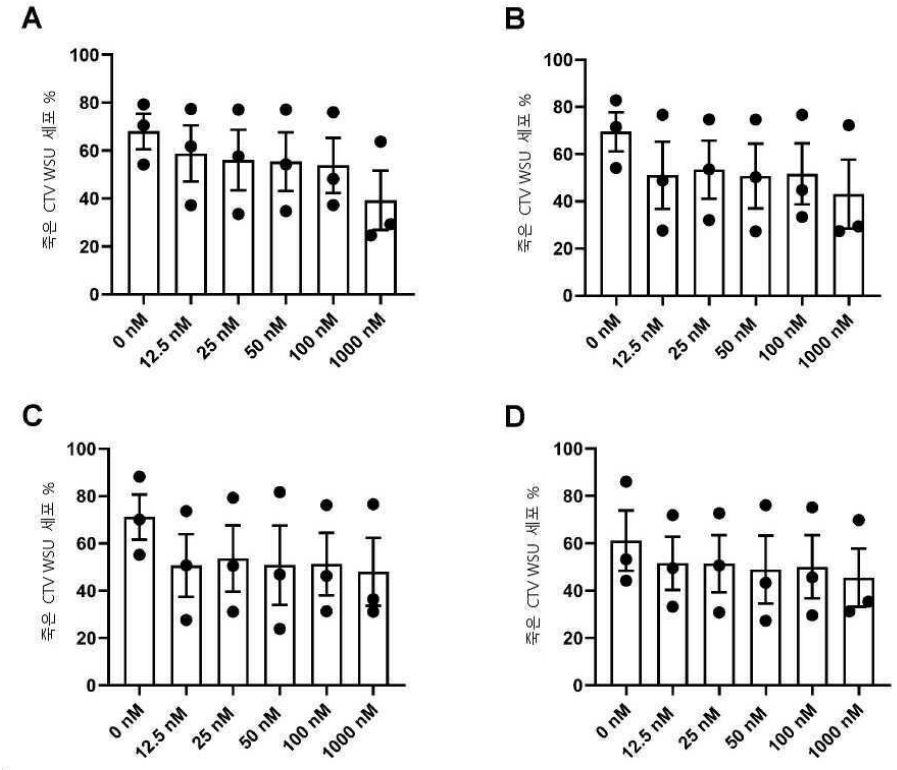
도면12


A
IFN-γ (pg/mL)
B
IL-2 (pg/mL)
C
TNF-α (pg/mL)
D
IL-6 (pg/mL)
E
GM-CSF (pg/mL)
F
IL-8 (pg/mL)
G
IL-4 (pg/mL)
H
IL-10 (pg/mL)
I
MCP-1 (pg/mL)
룩소리티닙 [nM]
0
100
50
25
12.5
6.25

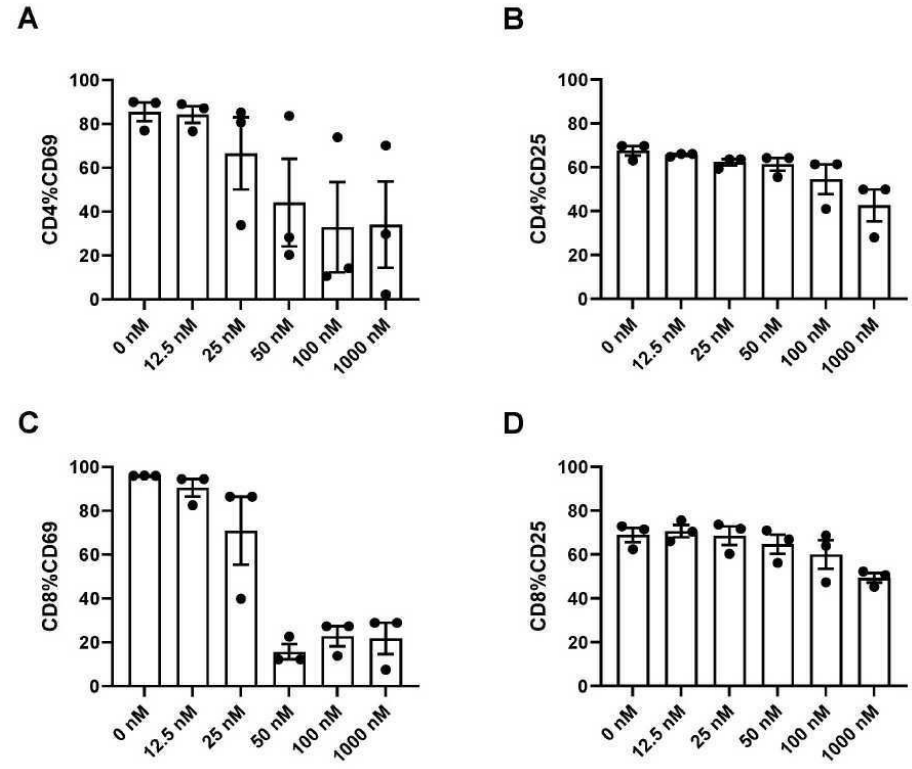
도면13


PBMCs
CD20-TCB
+ 템시로리무스
+ 시로리무스
+ 에베로리무스
+ 룩소리티닙
CellTrace™
Violet WSU
DLCL2
t = 0h
t = 24h

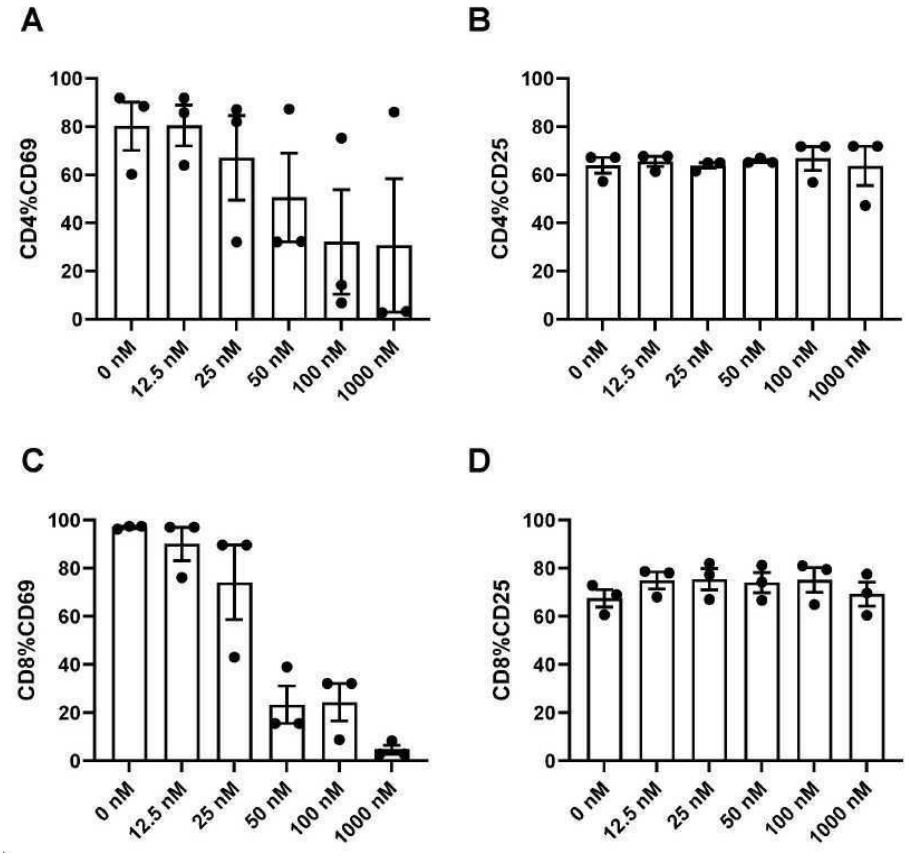
도면14


A
B
C
D
죽은 CTV WSU 세포 %
0
20
40
60
80
100
0 nM
12.5 nM
25 nM
50 nM
100 nM
1000 nM

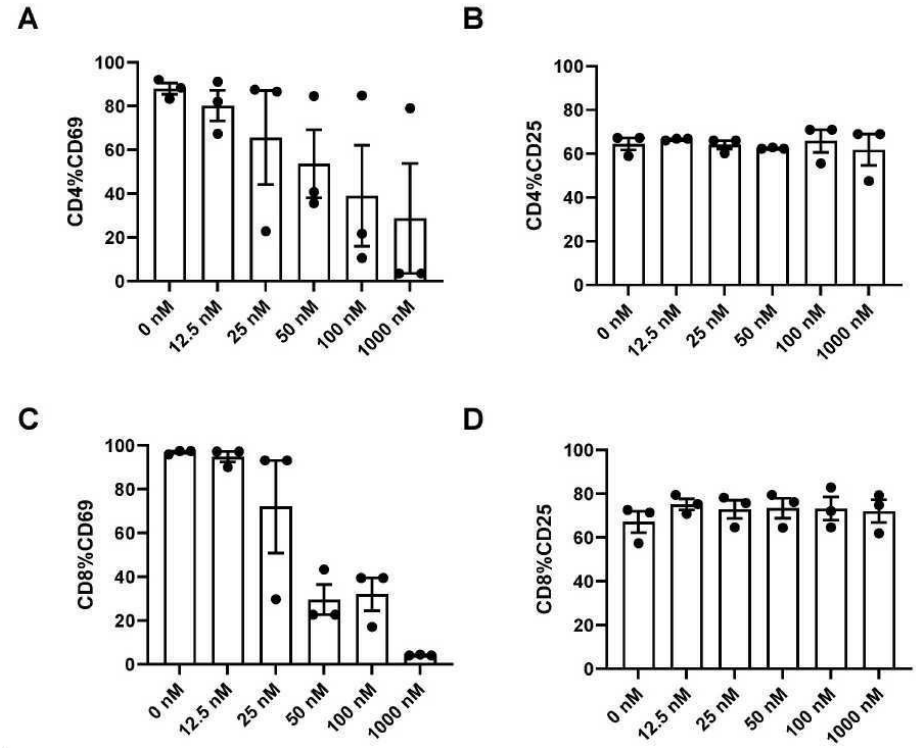
도면15


A
B
C
D
CD4%CD69
CD4%CD25
CD8%CD69
CD8%CD25
0
20
40
60
80
100
0 nM
12.5 nM
25 nM
50 nM
100 nM
1000 nM

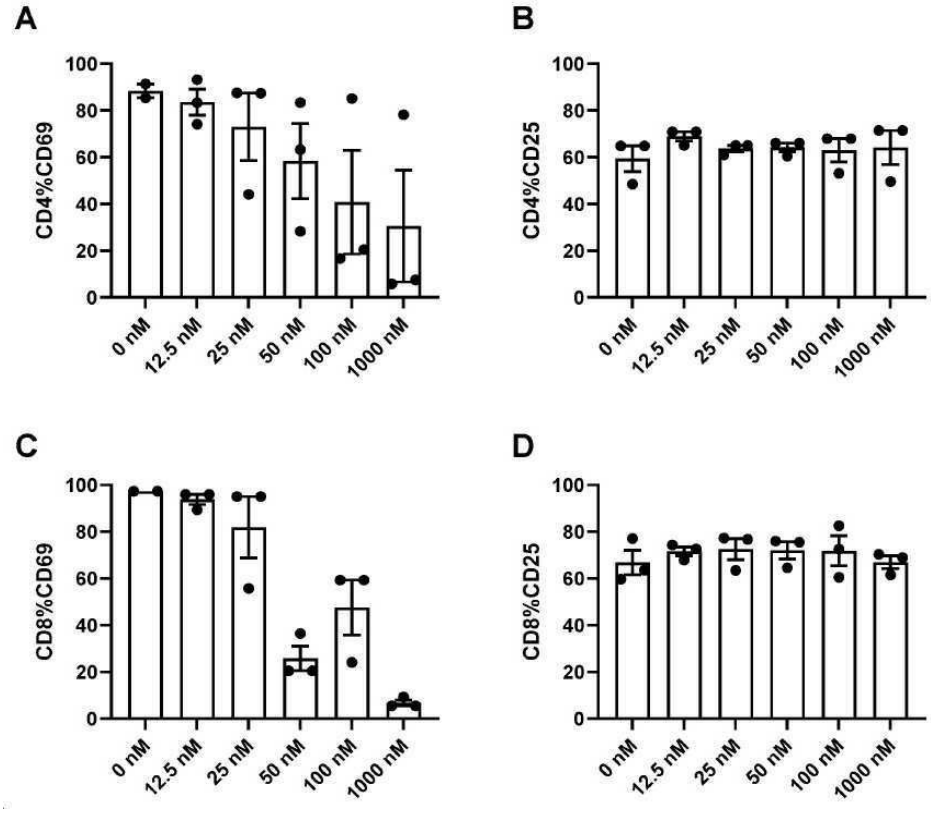
도면16


A
B
C
D
CD4%CD69
CD4%CD25
CD8%CD69
CD8%CD25
100
80
60
40
20
0
0 nM
12.5 nM
25 nM
50 nM
100 nM
1000 nM

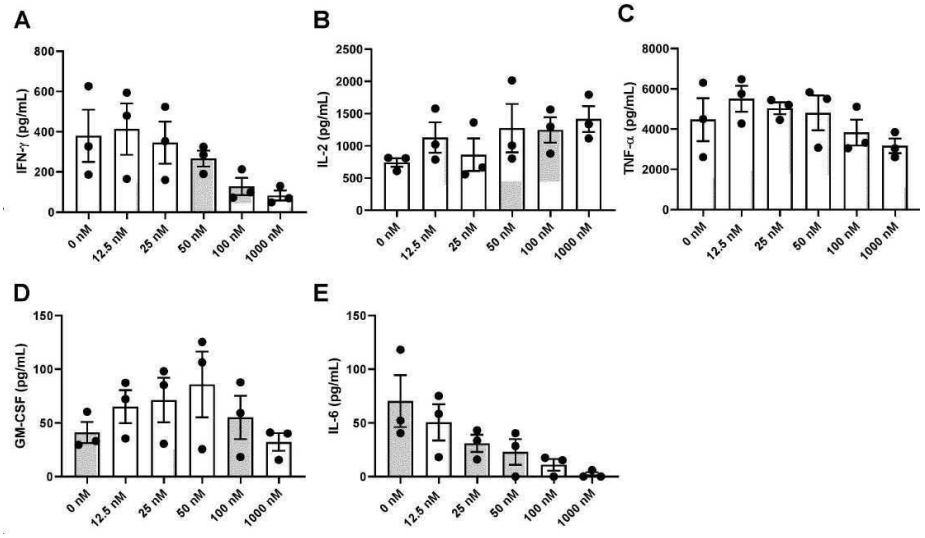
도면17


A
B
C
D
CD4%CD69
CD4%CD25
CD8%CD69
CD8%CD25
100
80
60
40
20
0
0 nM
12.5 nM
25 nM
50 nM
100 nM
1000 nM

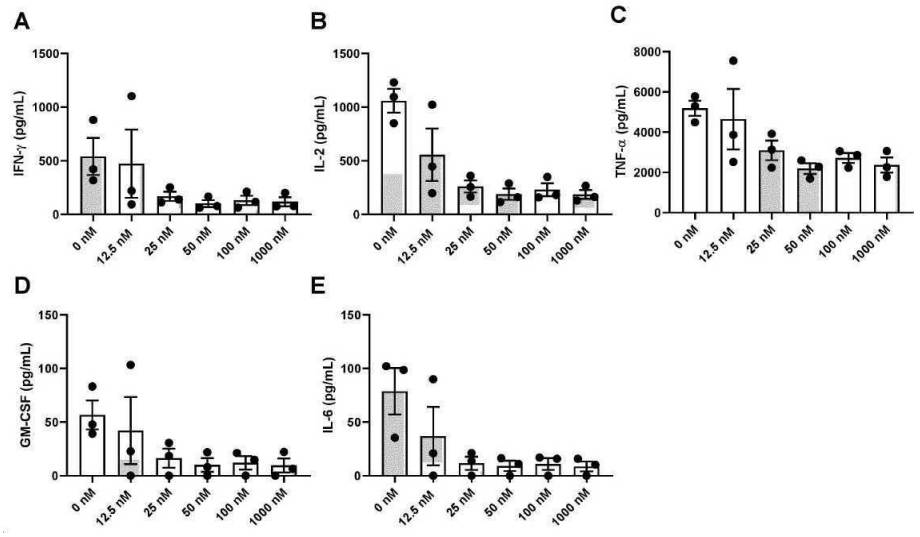
도면18


A
CD4%CD69
B
CD4%CD25
C
CD8%CD69
D
CD8%CD25
0 nM
12.5 nM
25 nM
50 nM
100 nM
1000 nM

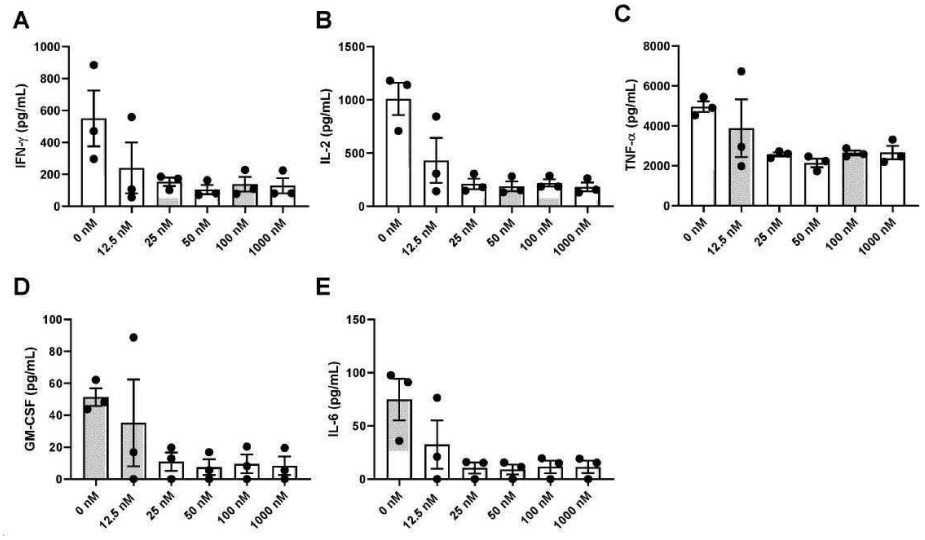
도면19


A
IFN-γ (pg/mL)
B
IL-2 (pg/mL)
C
TNF-α (pg/mL)
D
GM-CSF (pg/mL)
E
IL-6 (pg/mL)
0 nM
12.5 nM
25 nM
50 nM
100 nM
1000 nM

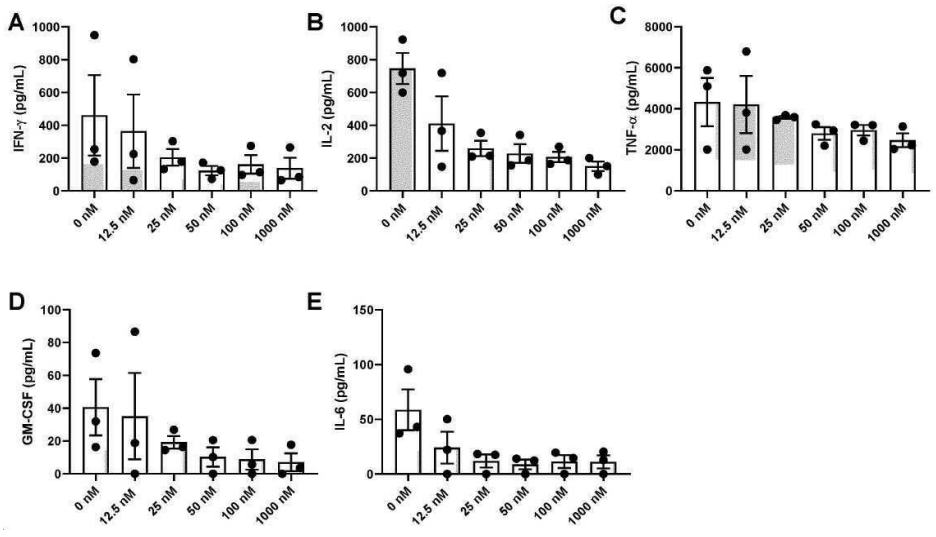
도면20



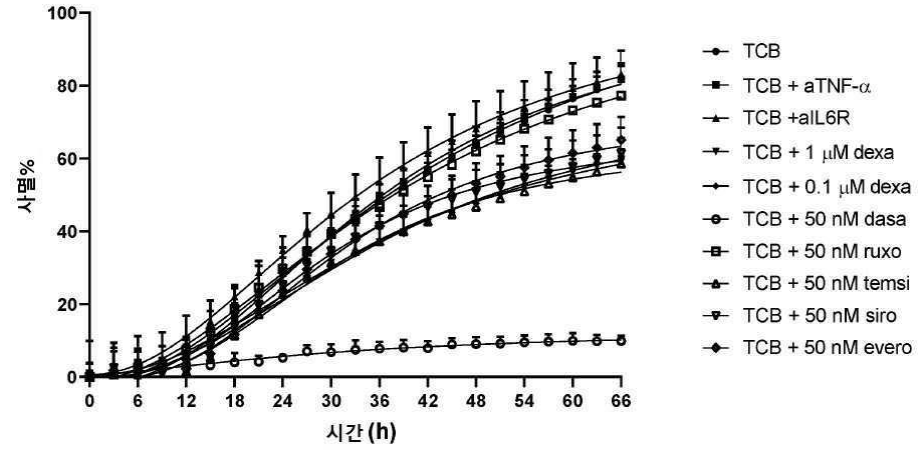
도면21



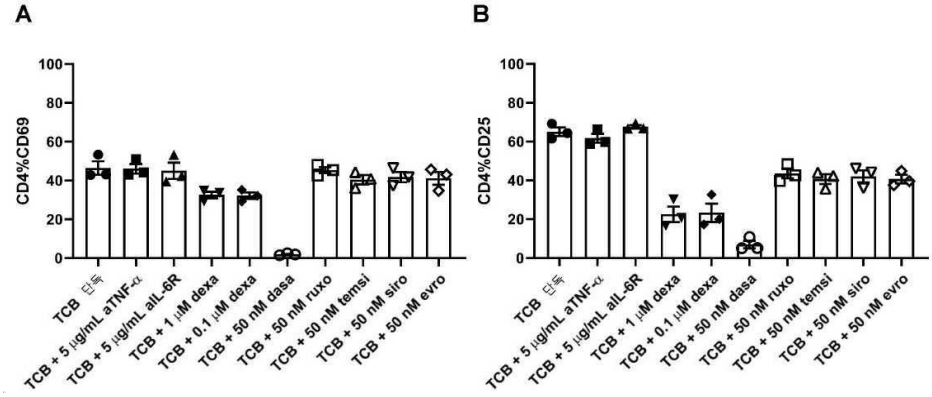
도면22



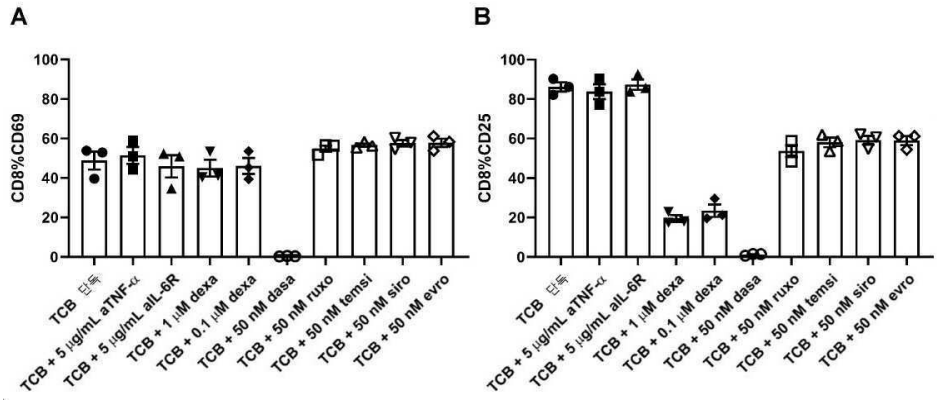
도면23



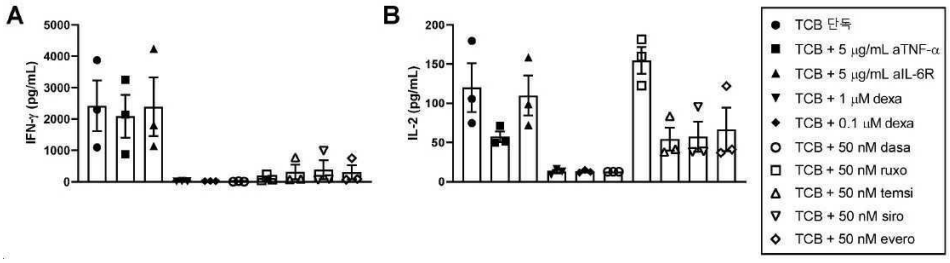
도면24



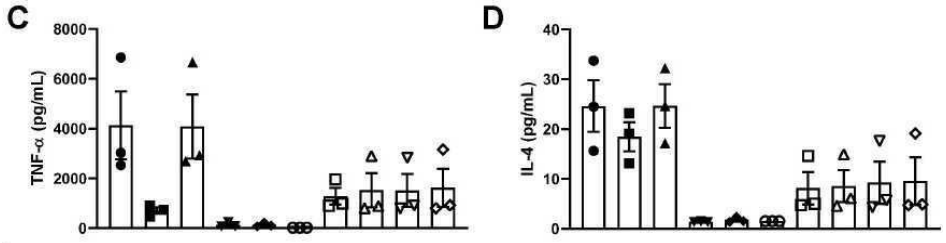
도면25



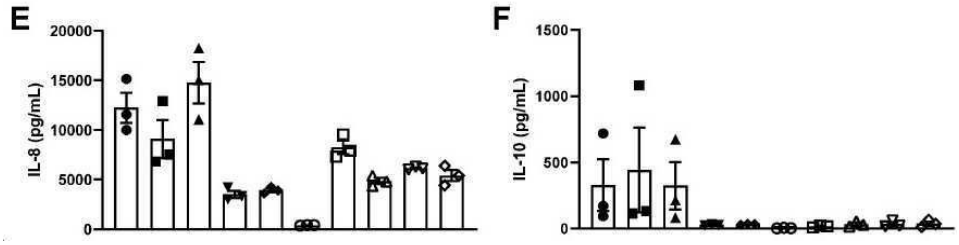
도면26ab



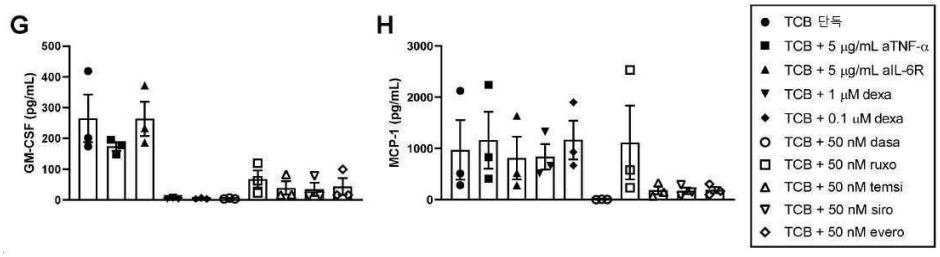
도면26cd



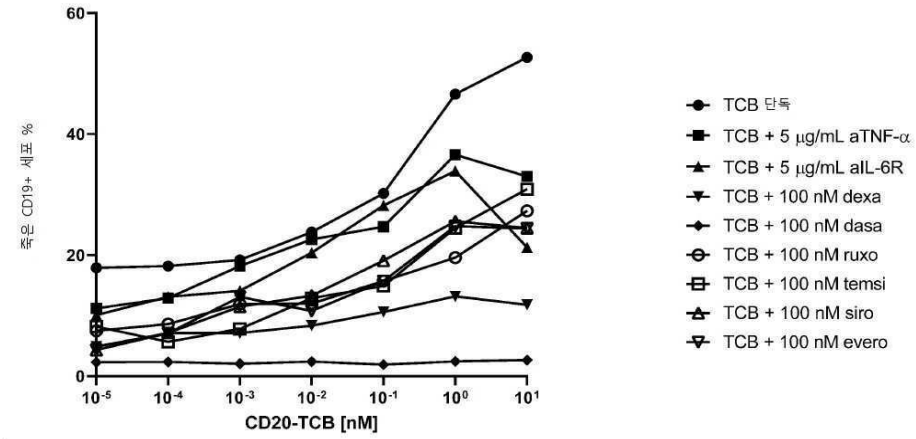
도면26ef



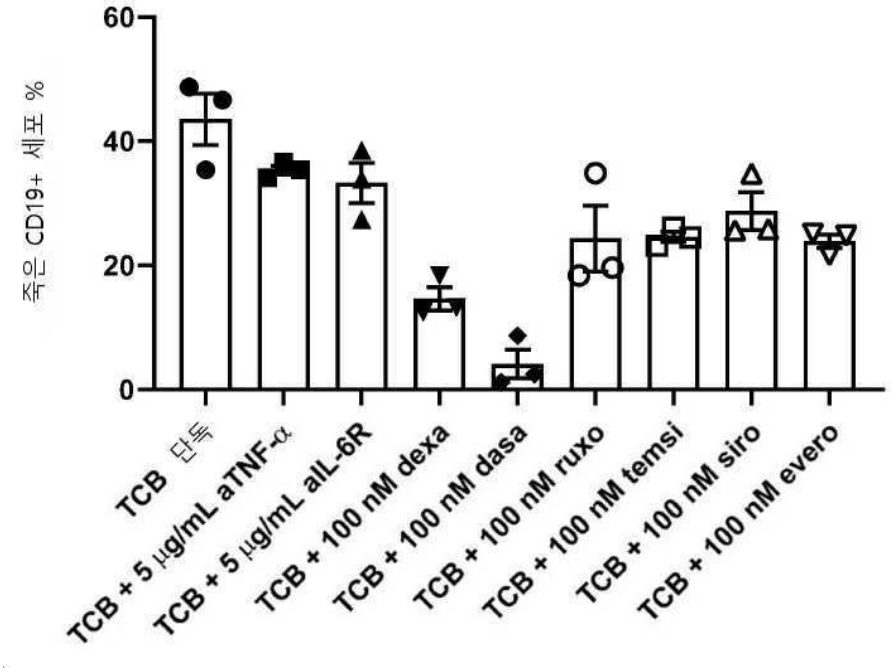
도면26gh



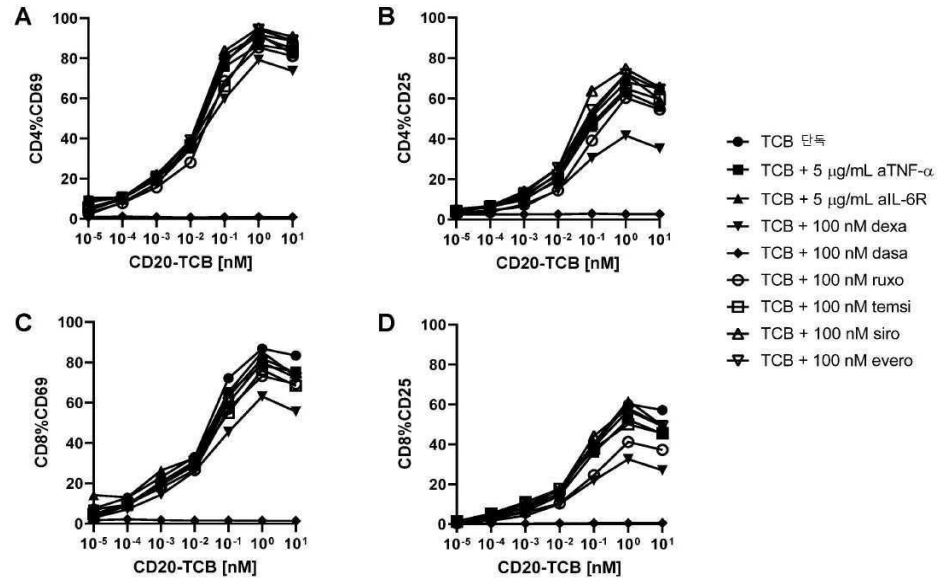
도면27


60
40
20
0
죽은 CD19+ 세포 %
10-5
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
CD20-TCB [nM]
TCB 단독
TCB + 5 μg/mL aTNF-α
TCB + 5 μg/mL aIL-6R
TCB + 100 nM dexa
TCB + 100 nM dasa
TCB + 100 nM ruxo
TCB + 100 nM temsi
TCB + 100 nM siro
TCB + 100 nM evero

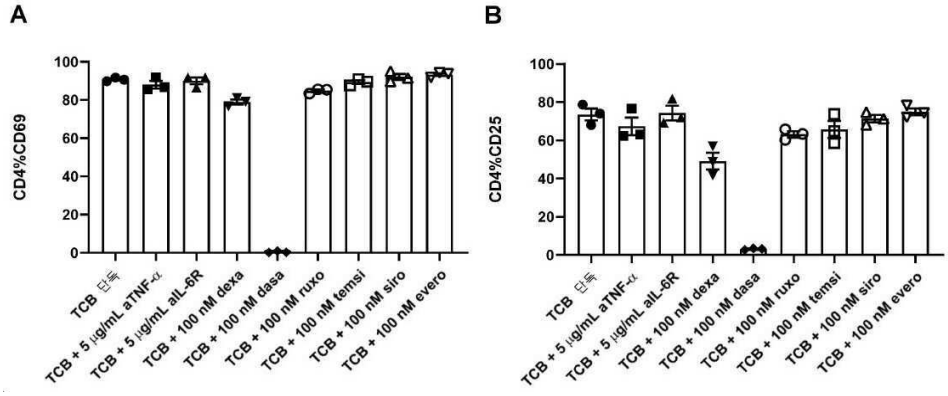
도면28


60
40
20
0
죽은 CD19+ 세포 %
TCB 단독
TCB + 5 μg/mL aTNF-α
TCB + 5 μg/mL aIL-6R
TCB + 100 nM dexa
TCB + 100 nM dasa
TCB + 100 nM ruxo
TCB + 100 nM temsi
TCB + 100 nM siro
TCB + 100 nM evero

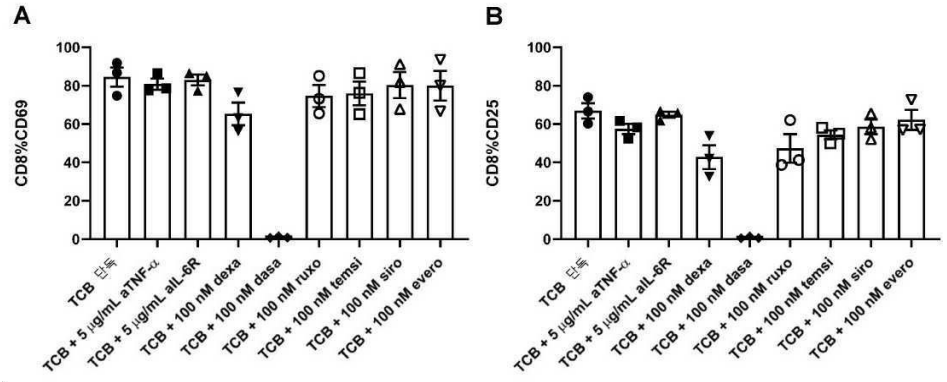
도면29



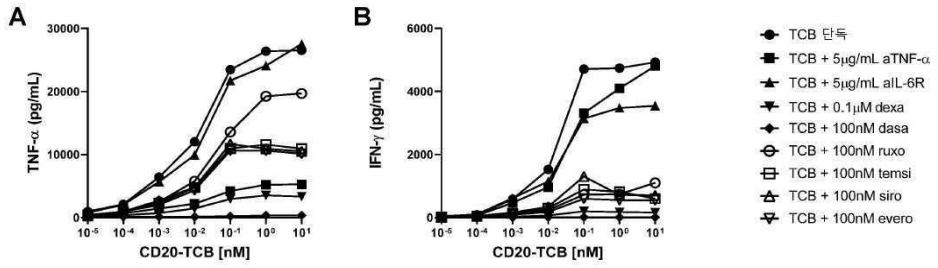
도면30



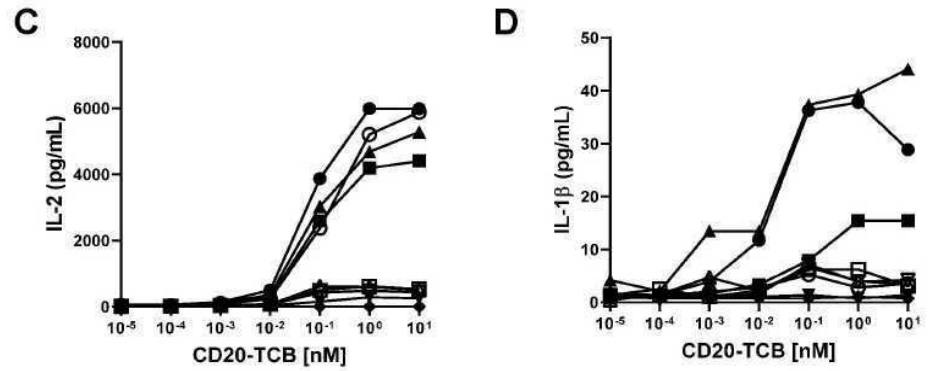
도면31



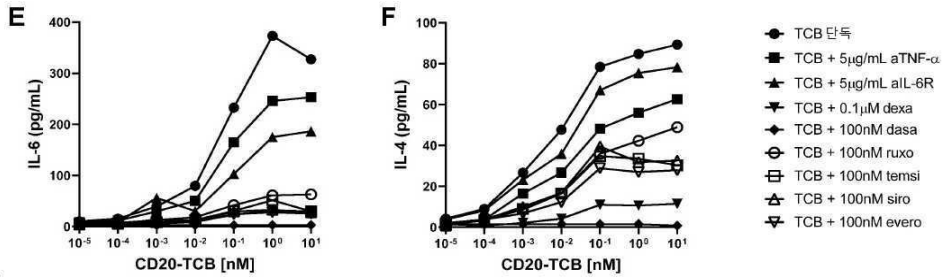
도면32ab



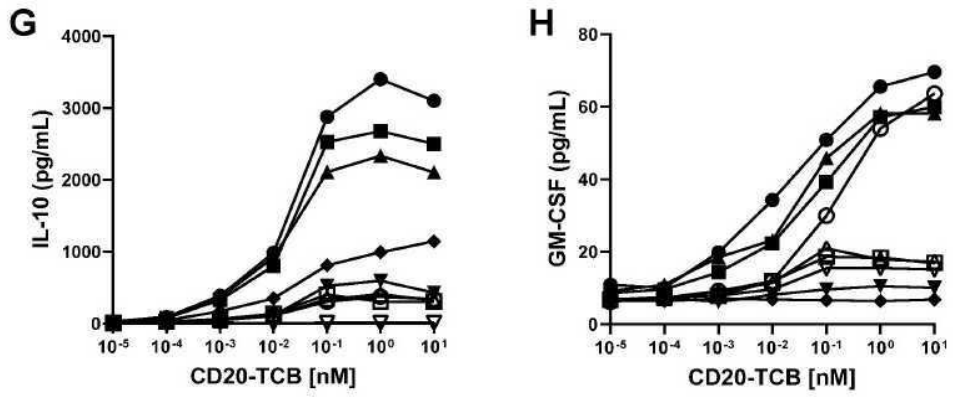
도면32cd



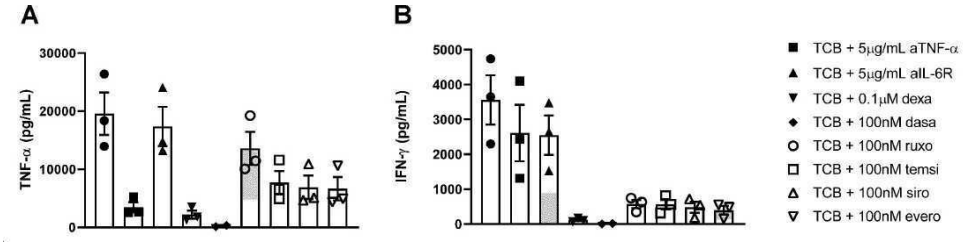
도면32ef



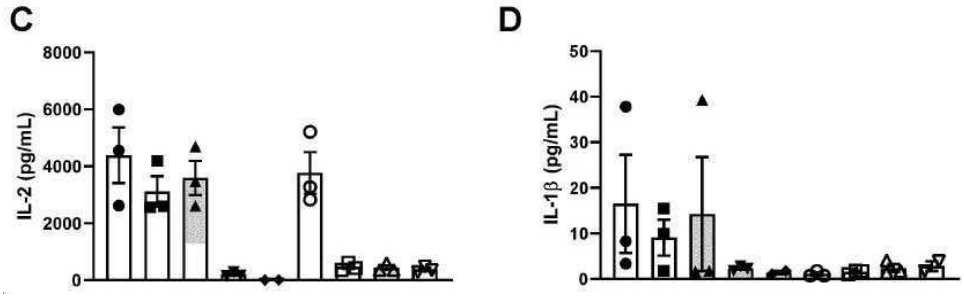
도면32gh



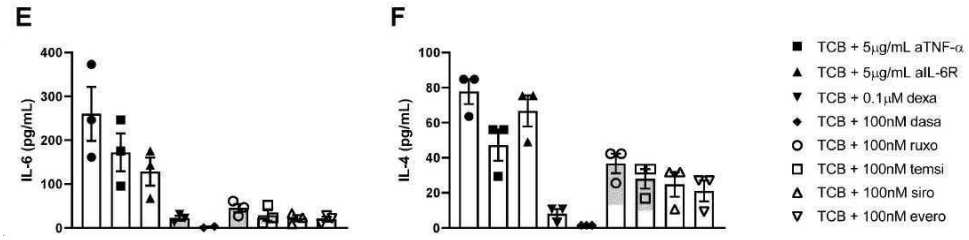
도면33ab



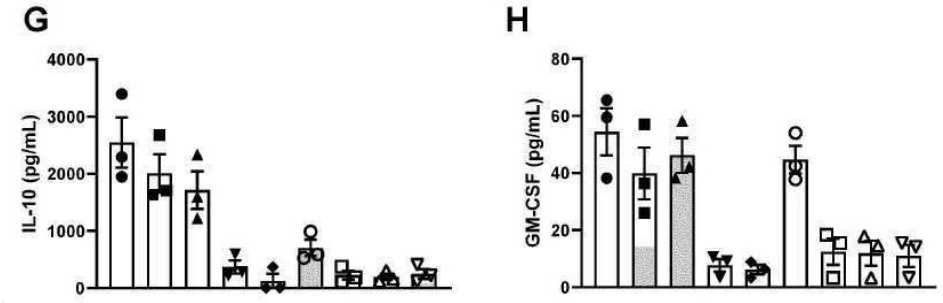
도면33cd



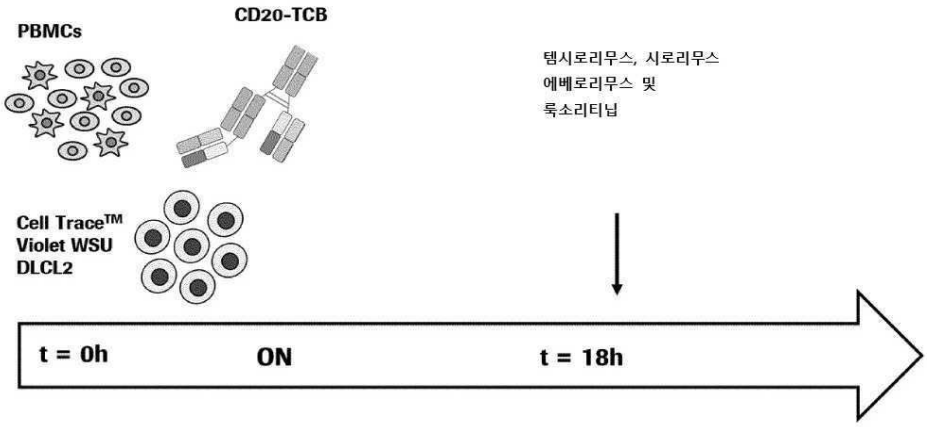
도면33ef



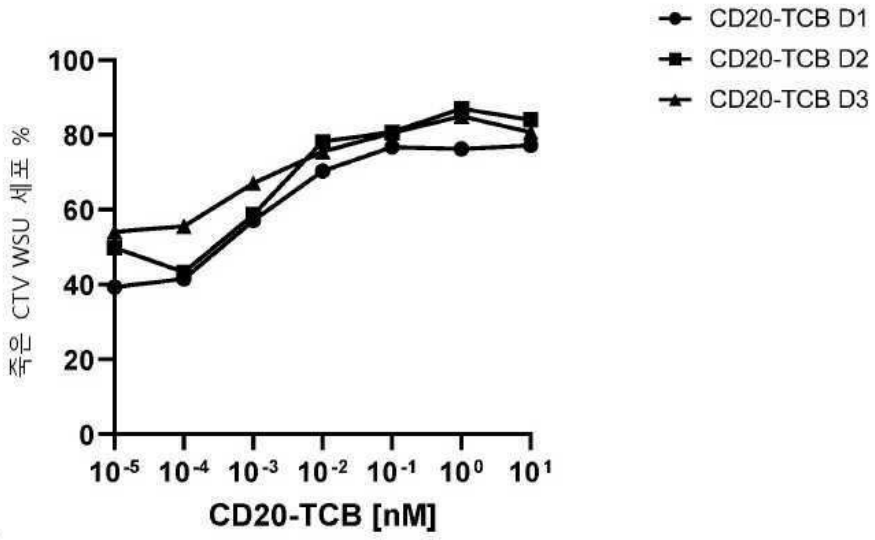
도면33gh



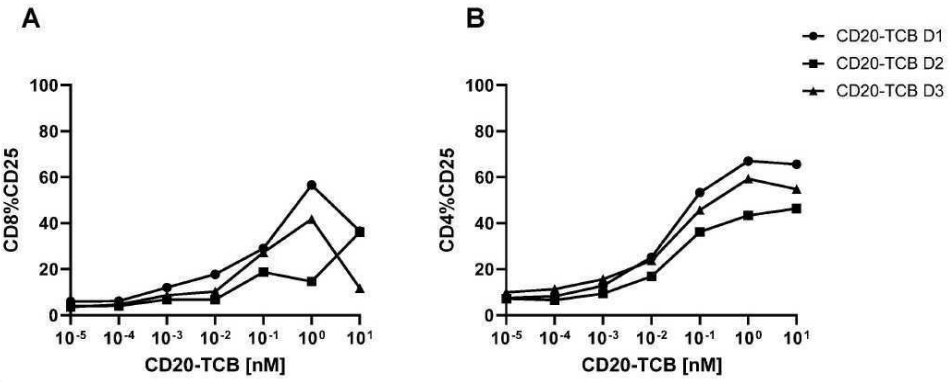
도면34



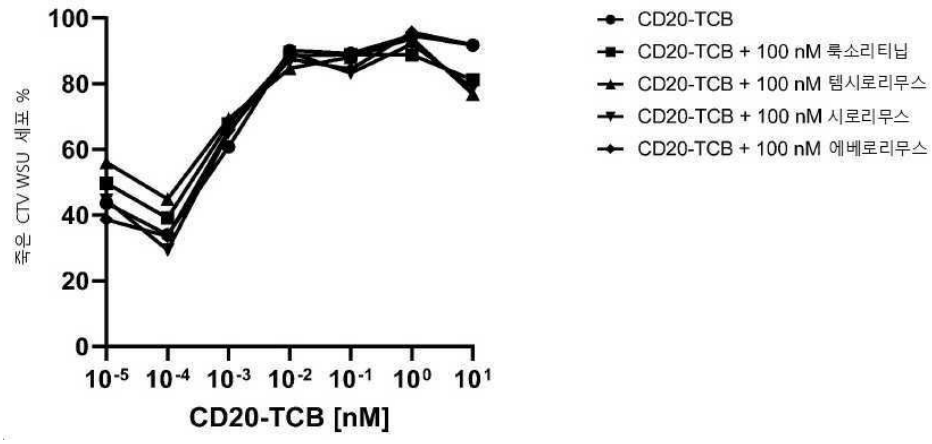
도면35



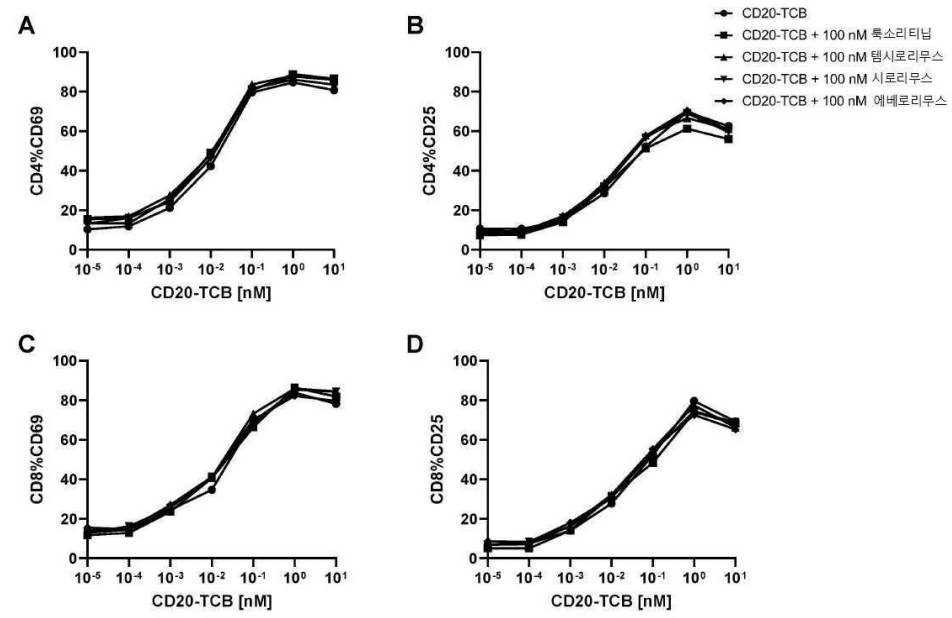
도면36



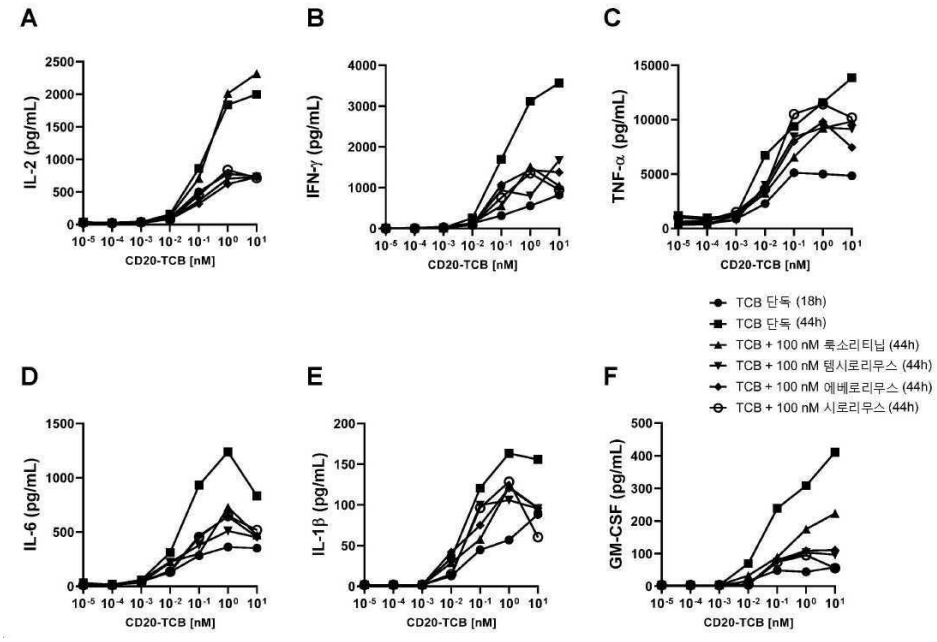
도면37


죽은 CTV WSU 세포 %
CD20-TCB [nM]
CD20-TCB
CD20-TCB + 100 nM 룩소리티닙
CD20-TCB + 100 nM 템시로리무스
CD20-TCB + 100 nM 시로리무스
CD20-TCB + 100 nM 에베로리무스

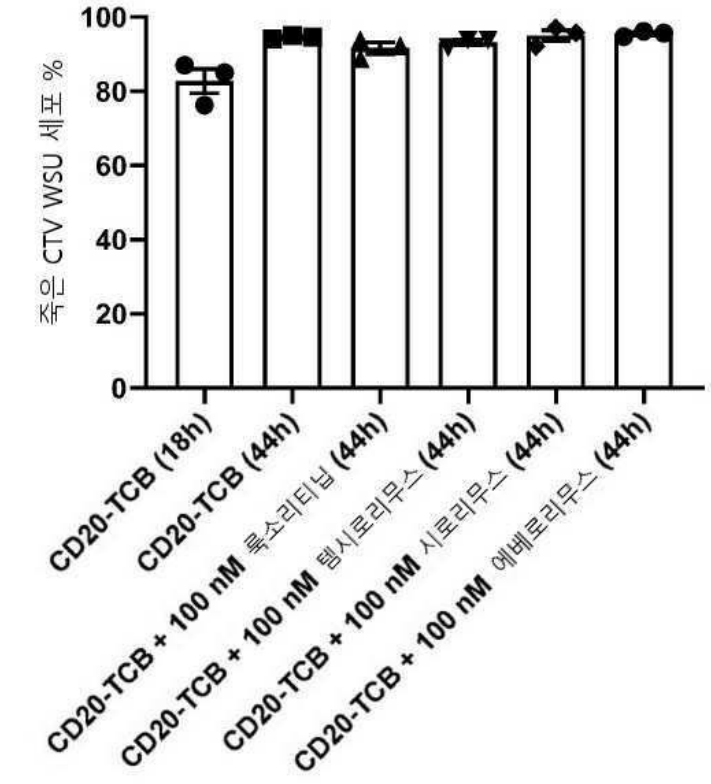
도면38


A
B
C
D
CD4%CD69
CD4%CD25
CD8%CD69
CD8%CD25
CD20-TCB [nM]
CD20-TCB
CD20-TCB + 100 nM 룩소리티닙
CD20-TCB + 100 nM 템시로리무스
CD20-TCB + 100 nM 시로리무스
CD20-TCB + 100 nM 에베로리무스

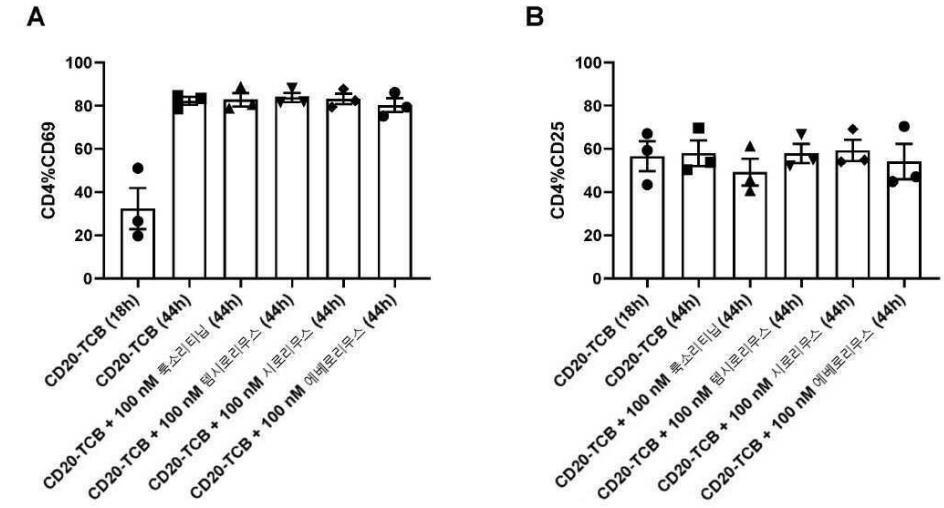
도면39


A
B
C
D
E
F
IL-2 (pg/mL)
IFN-γ (pg/mL)
TNF-α (pg/mL)
IL-6 (pg/mL)
IL-1β (pg/mL)
GM-CSF (pg/mL)
CD20-TCB [nM]
TCB 단독 (18h)
TCB 단독 (44h)
TCB + 100 nM 룩소리티닙 (44h)
TCB + 100 nM 템시로리무스 (44h)
TCB + 100 nM 에베로리무스 (44h)
TCB + 100 nM 시로리무스 (44h)

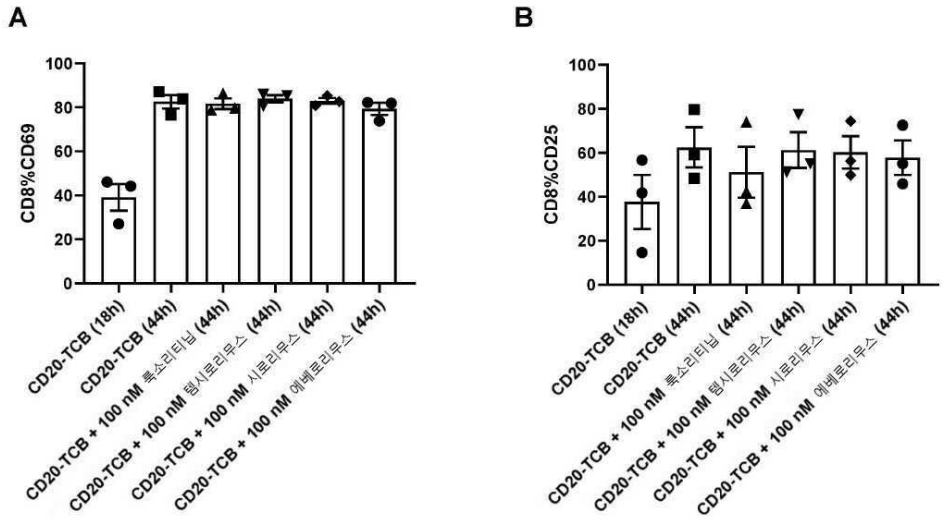
도면40


죽은 CTV WSU 세포 %
CD20-TCB (18h)
CD20-TCB (44h)
CD20-TCB + 100 nM 룩소리티닙 (44h)
CD20-TCB + 100 nM 템시로리무스 (44h)
CD20-TCB + 100 nM 시로리무스 (44h)
CD20-TCB + 100 nM 에베로리무스 (44h)

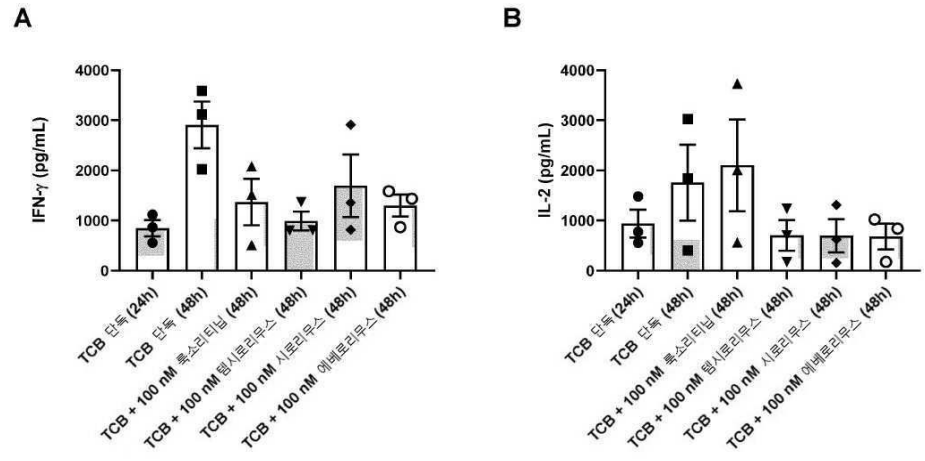
도면41



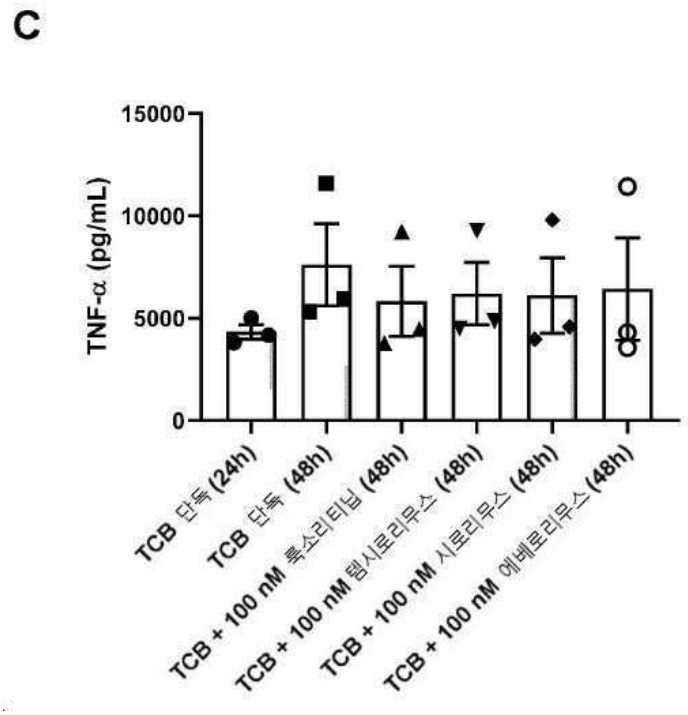
도면42



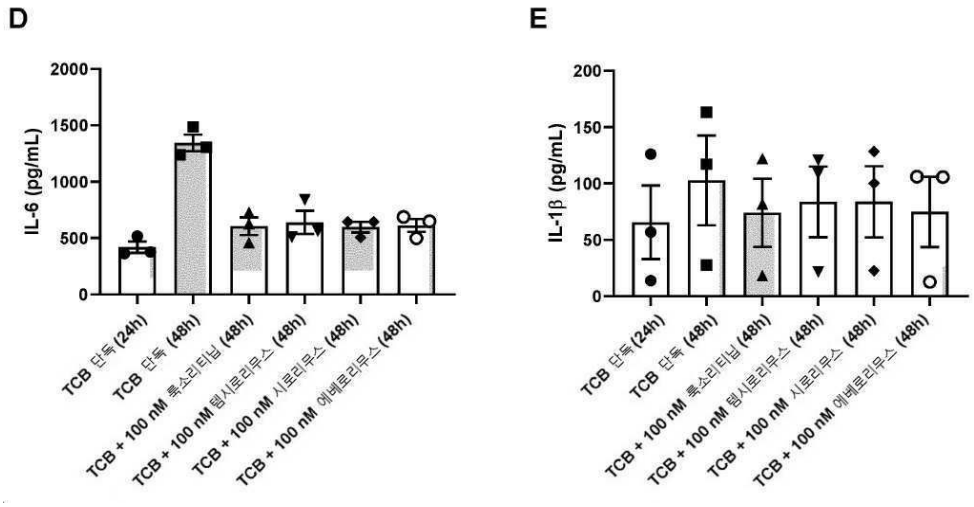
도면43ab



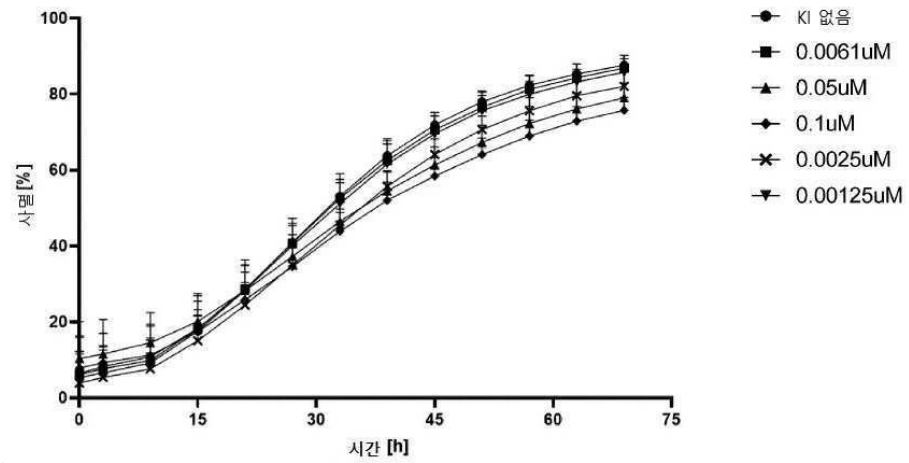
도면43c



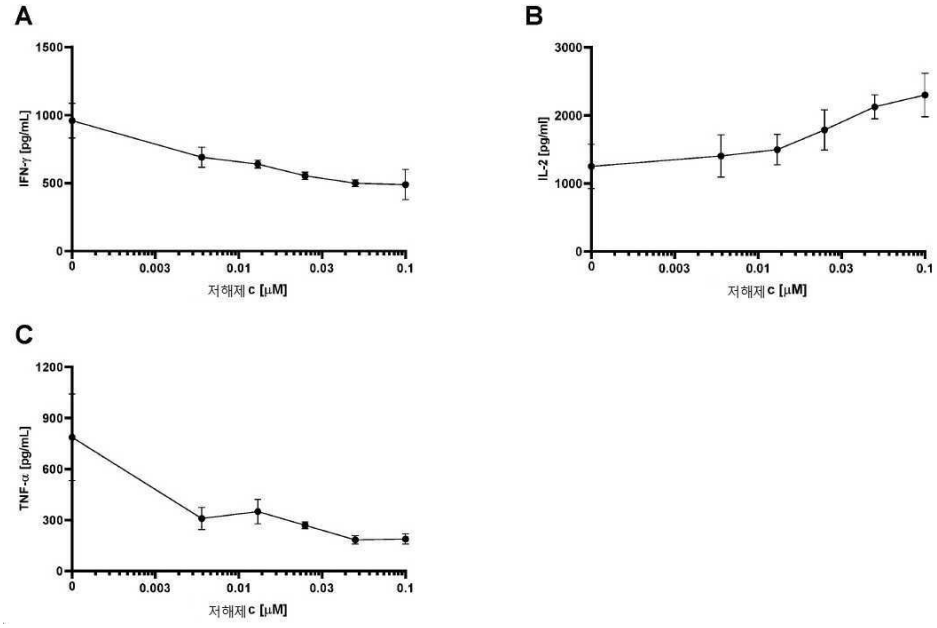
도면43de



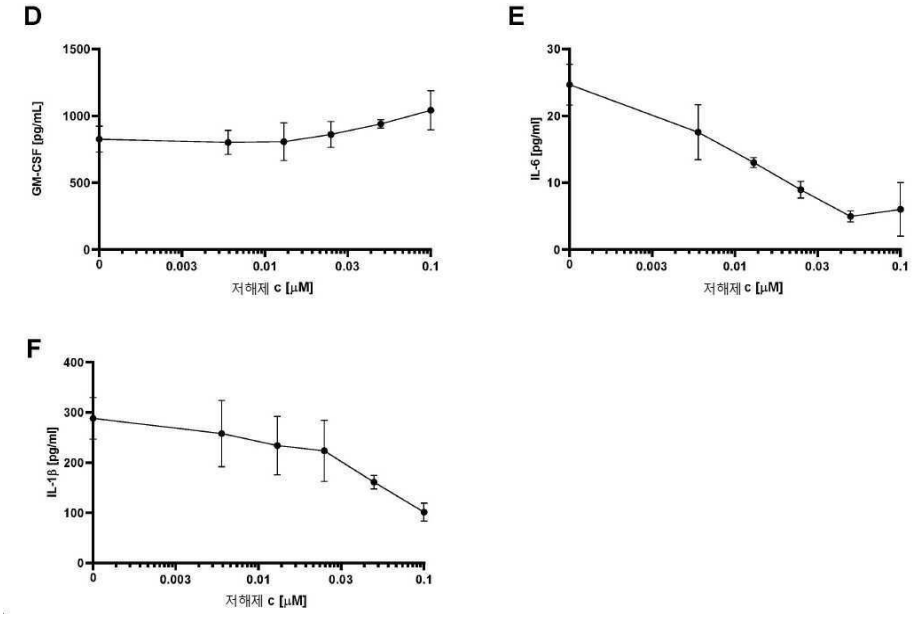
도면44



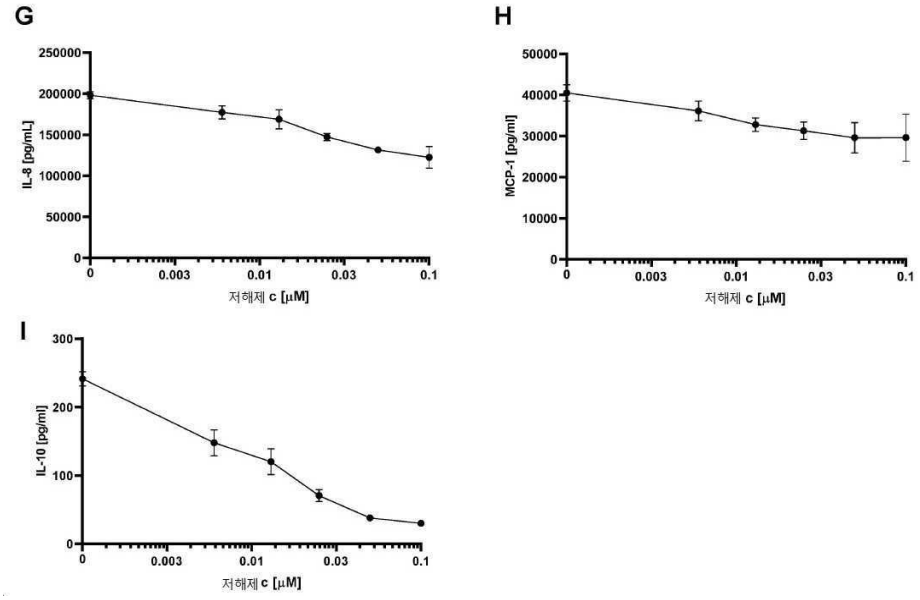
도면45abc



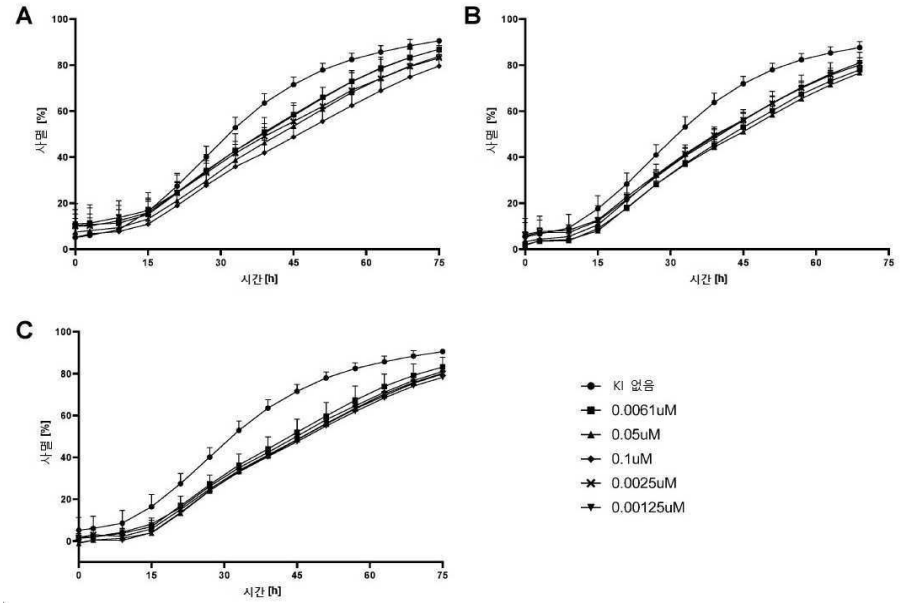
도면45def



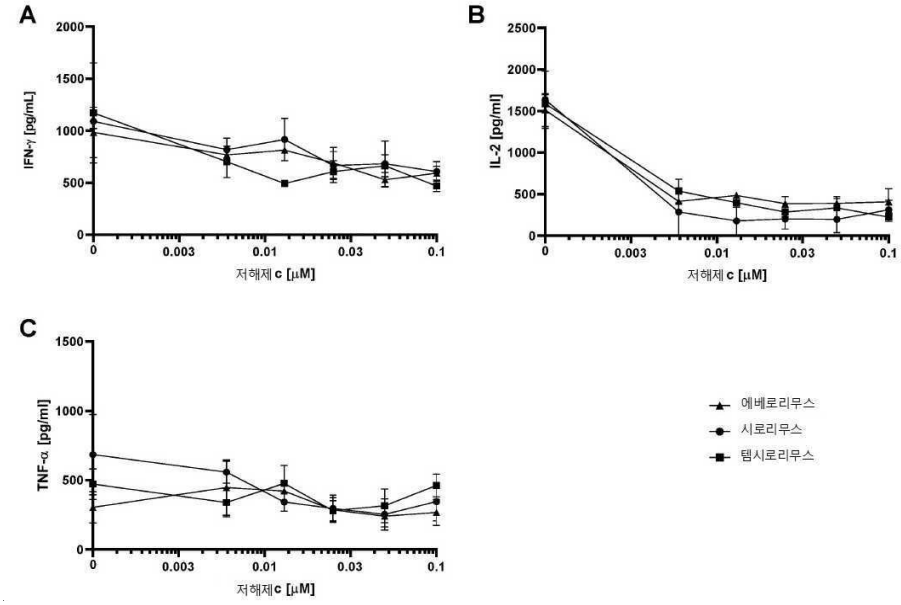
도면45ghi



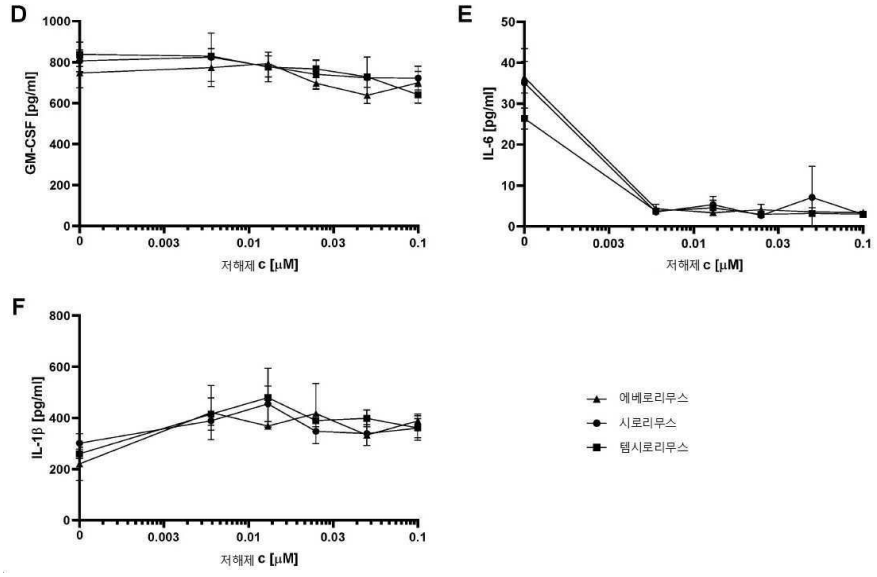
도면46



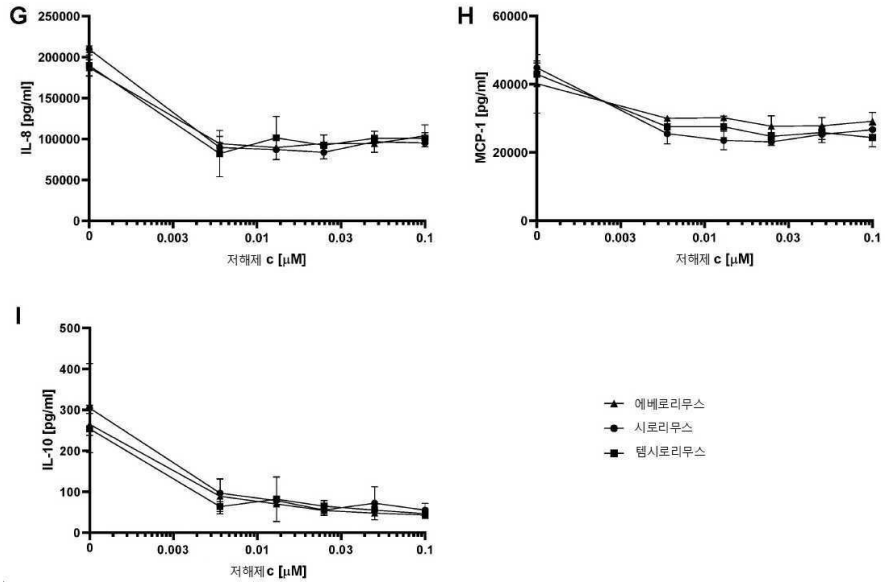
도면47abc



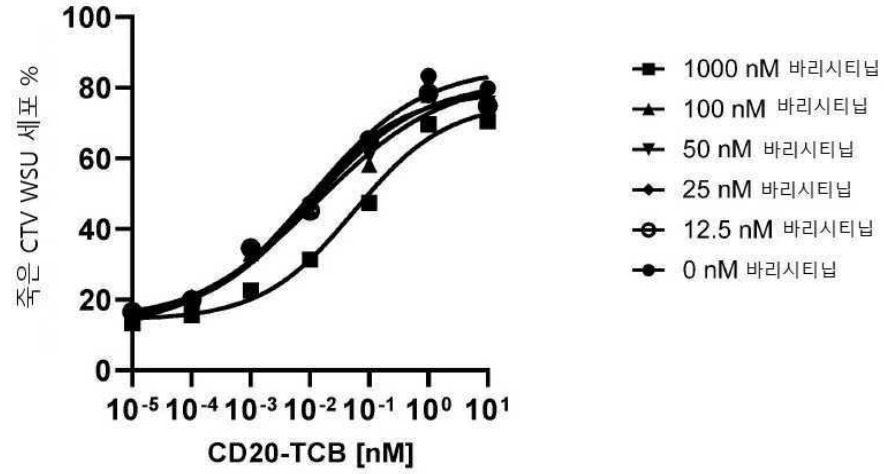
도면47def



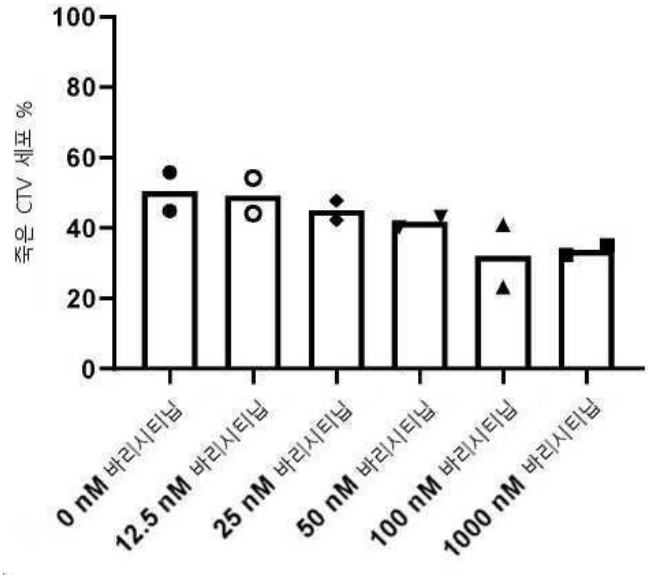
도면47ghi



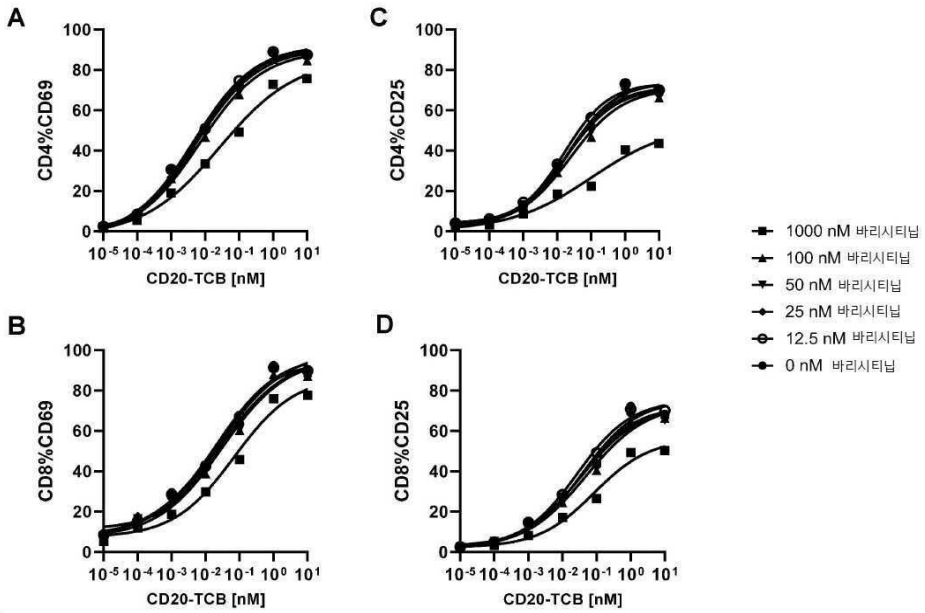
도면48


죽은 CTV WSU 세포 %
100
80
60
40
20
0
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
CD20-TCB [nM]
1000 nM 바리시티닙
100 nM 바리시티닙
50 nM 바리시티닙
25 nM 바리시티닙
12.5 nM 바리시티닙
0 nM 바리시티닙

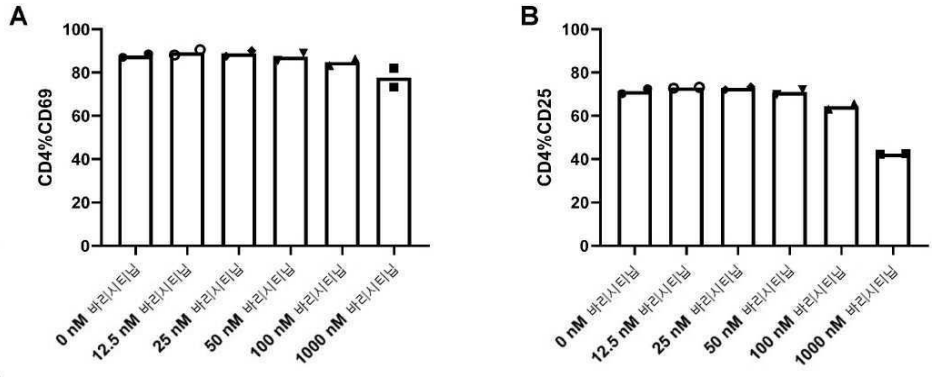
도면49


죽은 CTV 세포 %
100
80
60
40
20
0
0 nM 바리시티닙
12.5 nM 바리시티닙
25 nM 바리시티닙
50 nM 바리시티닙
100 nM 바리시티닙
1000 nM 바리시티닙

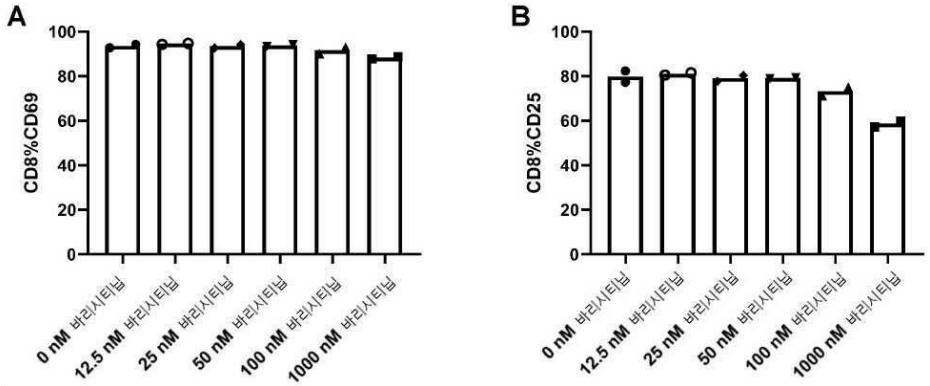
도면50



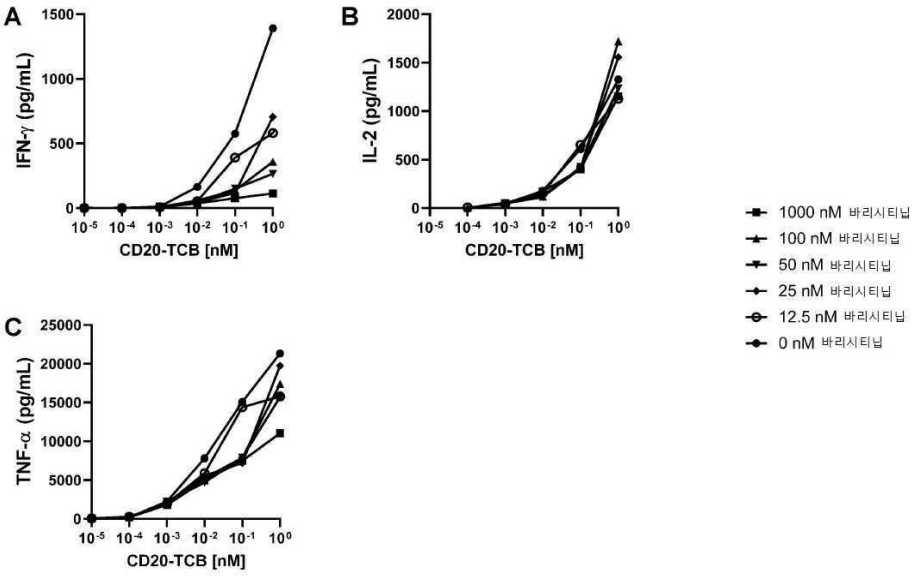
도면51



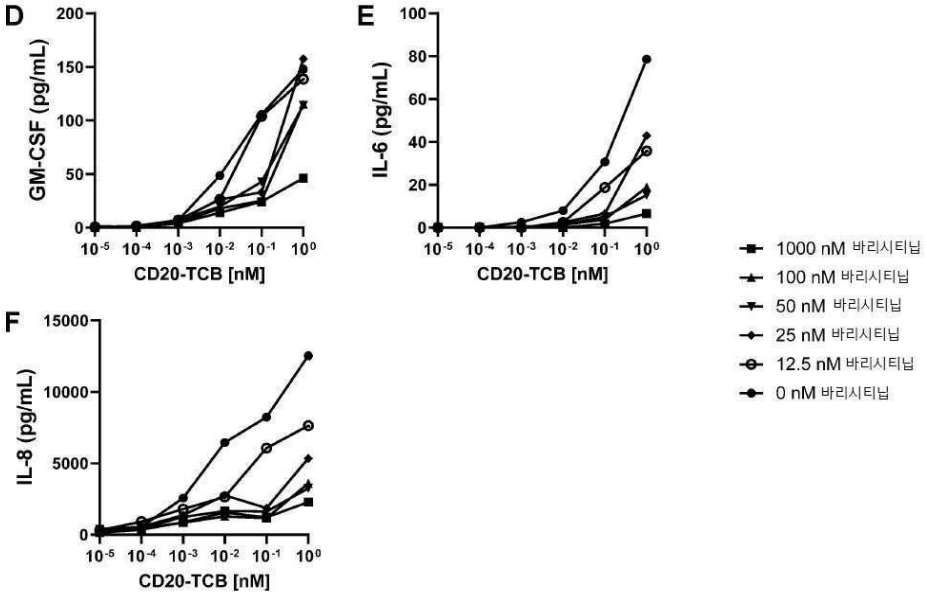
도면52



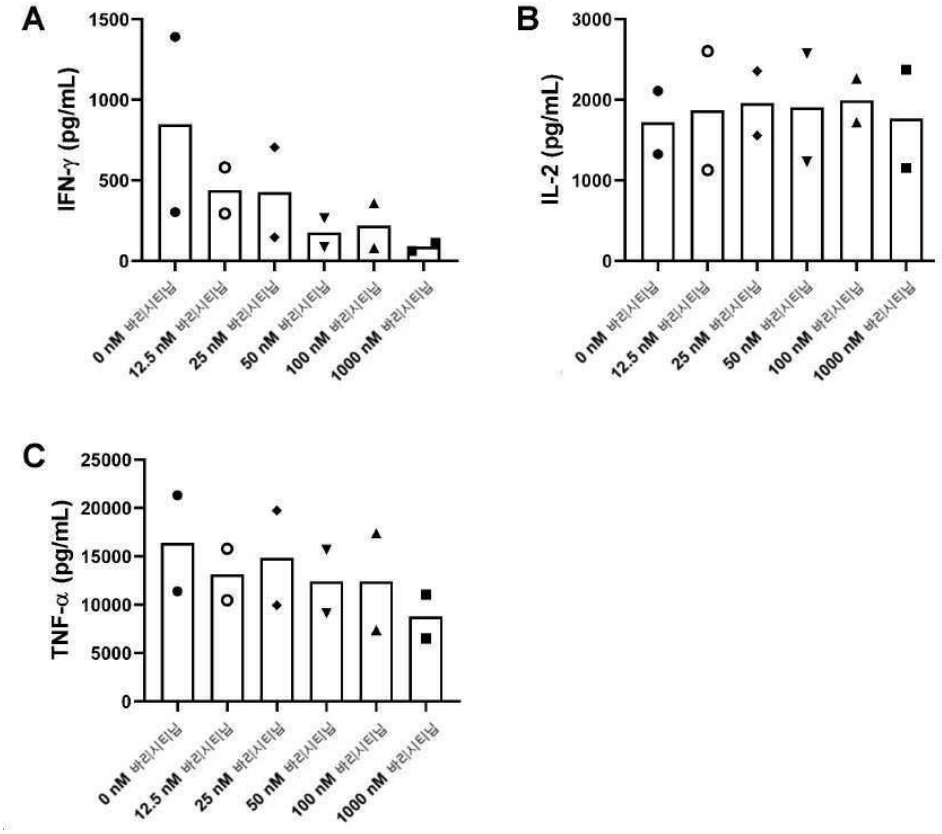
도면53abc



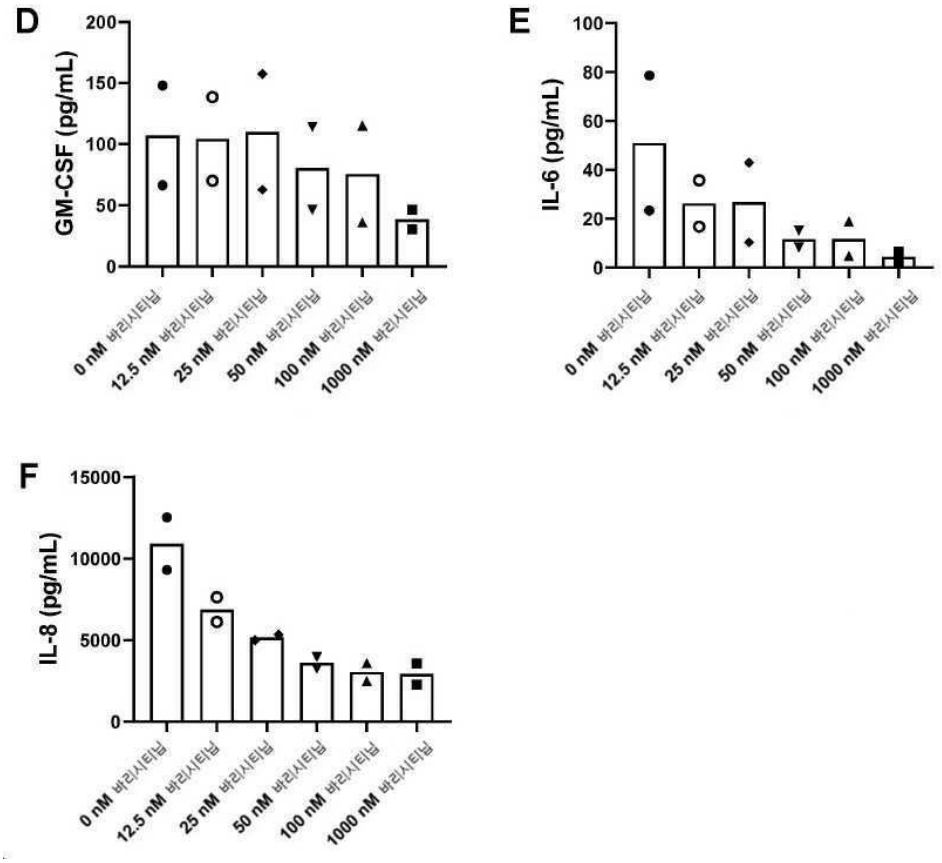
도면53def



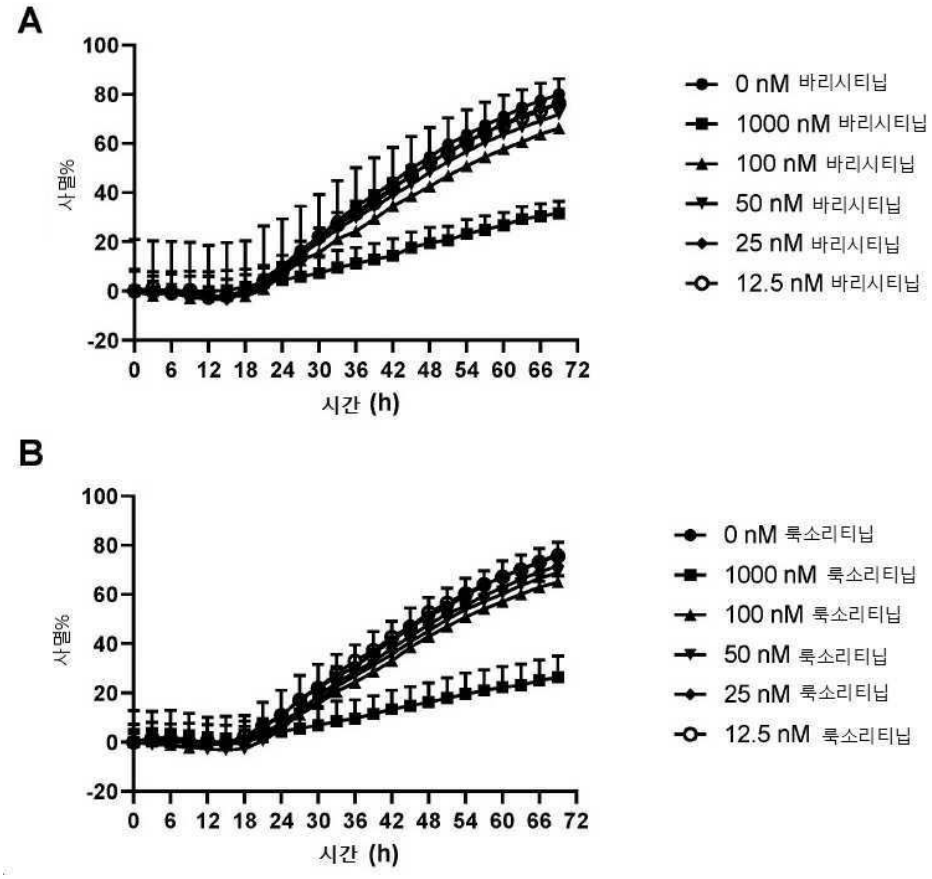
도면54abc



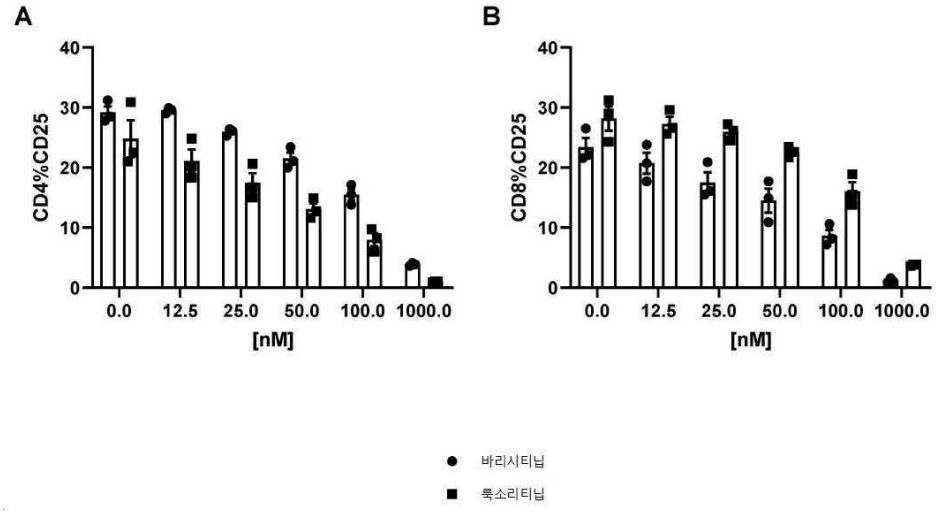
도면54def



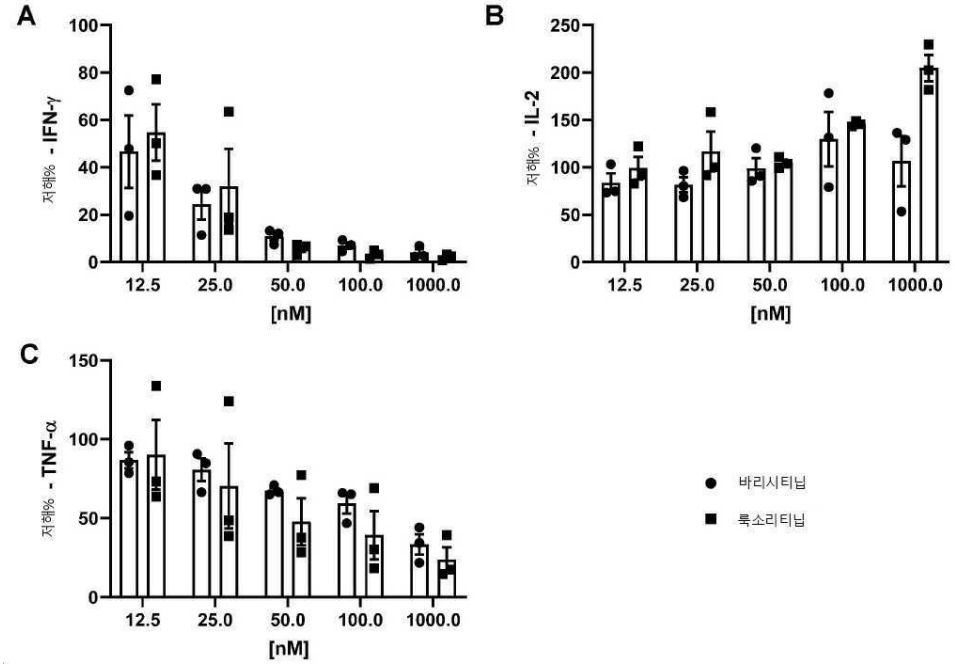
도면55


A
100
80
60
40
20
0
-20
사멸%
0 6 12 18 24 30 36 42 48 54 60 66 72
시간 (h)
0 nM 바리시티닙
1000 nM 바리시티닙
100 nM 바리시티닙
50 nM 바리시티닙
25 nM 바리시티닙
12.5 nM 바리시티닙
B
100
80
60
40
20
0
-20
사멸%
0 6 12 18 24 30 36 42 48 54 60 66 72
시간 (h)
0 nM 룩소리티닙
1000 nM 룩소리티닙
100 nM 룩소리티닙
50 nM 룩소리티닙
25 nM 룩소리티닙
12.5 nM 룩소리티닙

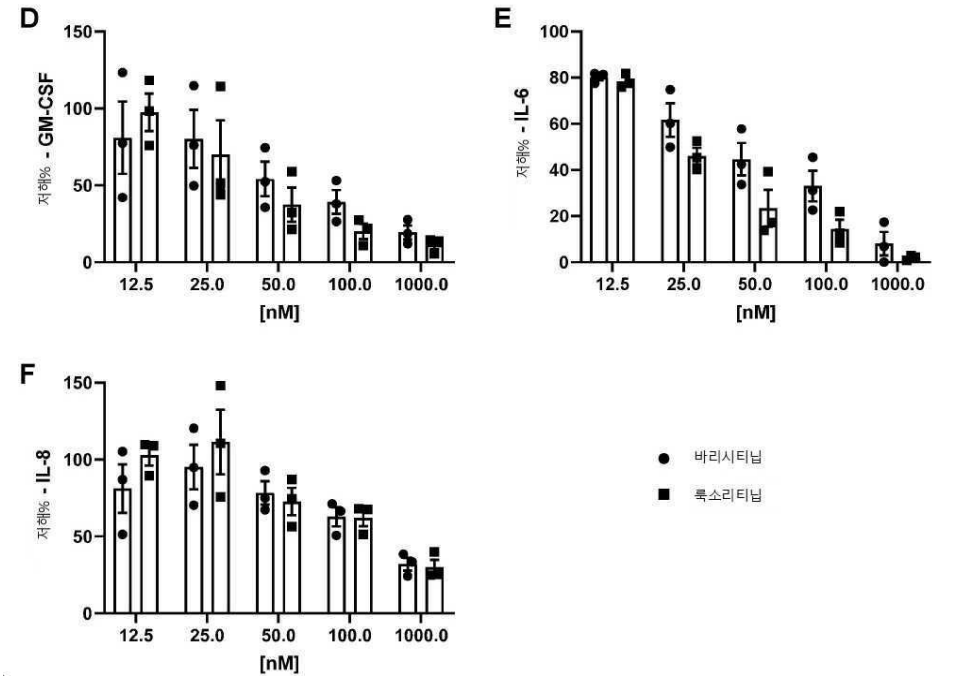
도면56


A
40
30
20
10
0
CD4%CD25
0.0 12.5 25.0 50.0 100.0 1000.0
[nM]
B
40
30
20
10
0
CD8%CD25
0.0 12.5 25.0 50.0 100.0 1000.0
[nM]
바리시티닙
룩소리티닙

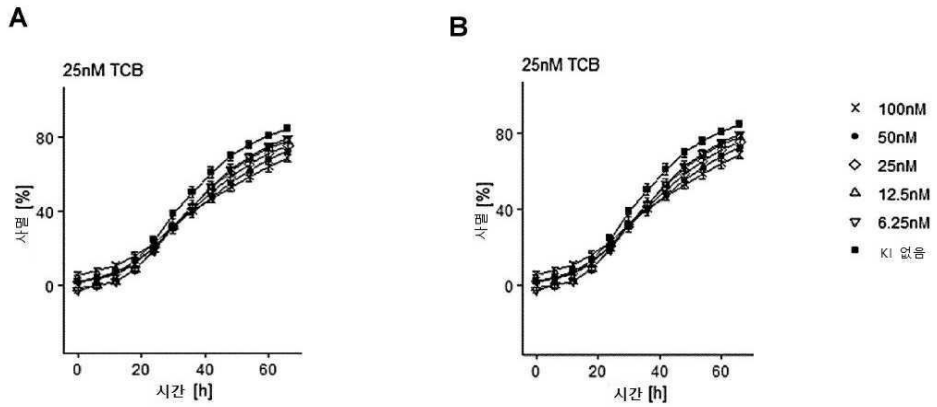
도면57abc



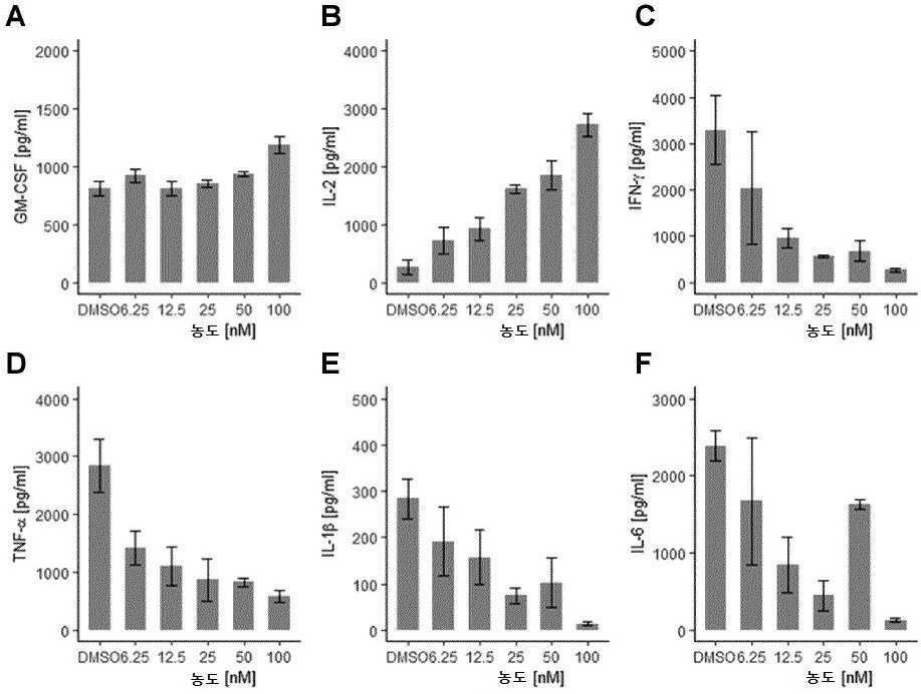
도면57def



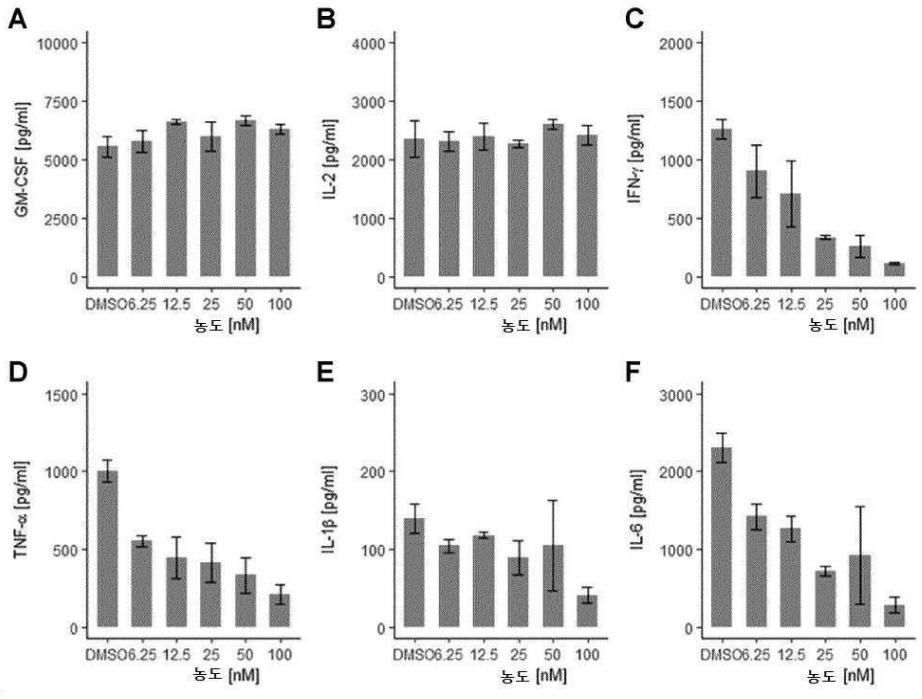
도면58


A
25nM TCB
사멸 [%]
시간 [h]
B
25nM TCB
사멸 [%]
시간 [h]
100nM
50nM
25nM
12.5nM
6.25nM
KI 없음

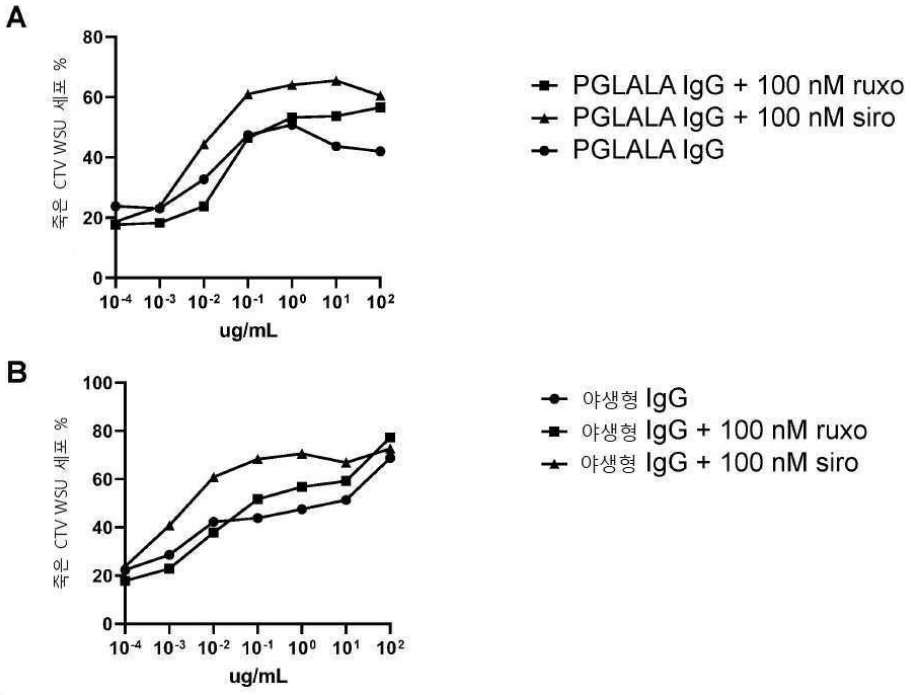
도면59


A
GM-CSF [pg/ml]
B
IL-2 [pg/ml]
C
IFN-γ [pg/ml]
D
TNF-α [pg/ml]
E
IL-1β [pg/ml]
F
IL-6 [pg/ml]
DMSO 6.25 12.5 25 50 100
농도 [nM]

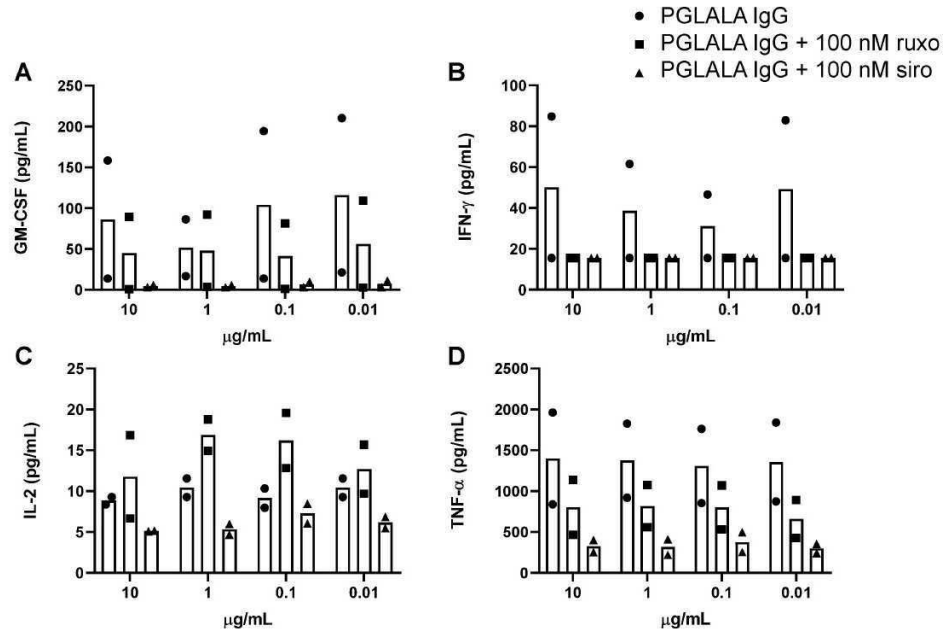
도면60


A
GM-CSF [pg/ml]
10000
7500
5000
2500
0
DMSO 6.25 12.5 25 50 100
농도 [nM]
B
IL-2 [pg/ml]
4000
3000
2000
1000
0
DMSO 6.25 12.5 25 50 100
농도 [nM]
C
IFN-γ [pg/ml]
2000
1500
1000
500
0
DMSO 6.25 12.5 25 50 100
농도 [nM]
D
TNF-α [pg/ml]
1500
1000
500
0
DMSO 6.25 12.5 25 50 100
농도 [nM]
E
IL-1β [pg/ml]
300
200
100
0
DMSO 6.25 12.5 25 50 100
농도 [nM]
F
IL-6 [pg/ml]
3000
2000
1000
0
DMSO 6.25 12.5 25 50 100
농도 [nM]

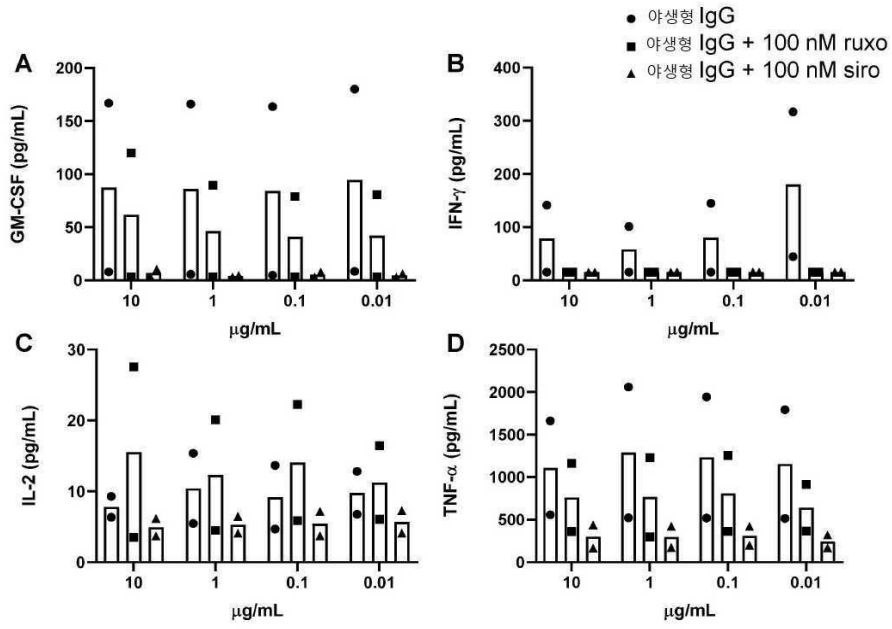
도면61


A
죽은 CTV WSU 세포 %
80
60
40
20
0
10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102
ug/mL
PGLALA IgG + 100 nM ruxo
PGLALA IgG + 100 nM siro
PGLALA IgG
B
죽은 CTV WSU 세포 %
100
80
60
40
20
0
10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102
ug/mL
야생형 IgG
야생형 IgG + 100 nM ruxo
야생형 IgG + 100 nM siro

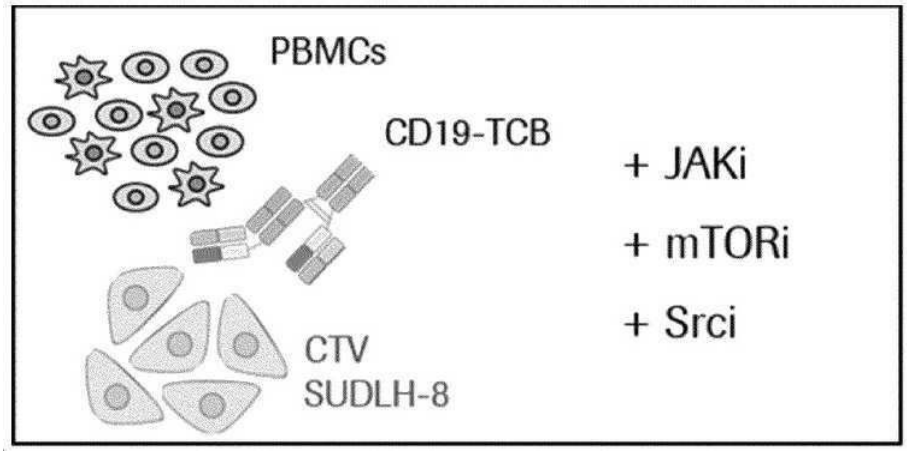
도면62


PGLALA IgG
PGLALA IgG + 100 nM ruxo
PGLALA IgG + 100 nM siro
A
GM-CSF (pg/mL)
B
IFN-γ (pg/mL)
C
IL-2 (pg/mL)
D
TNF-α (pg/mL)
μg/mL

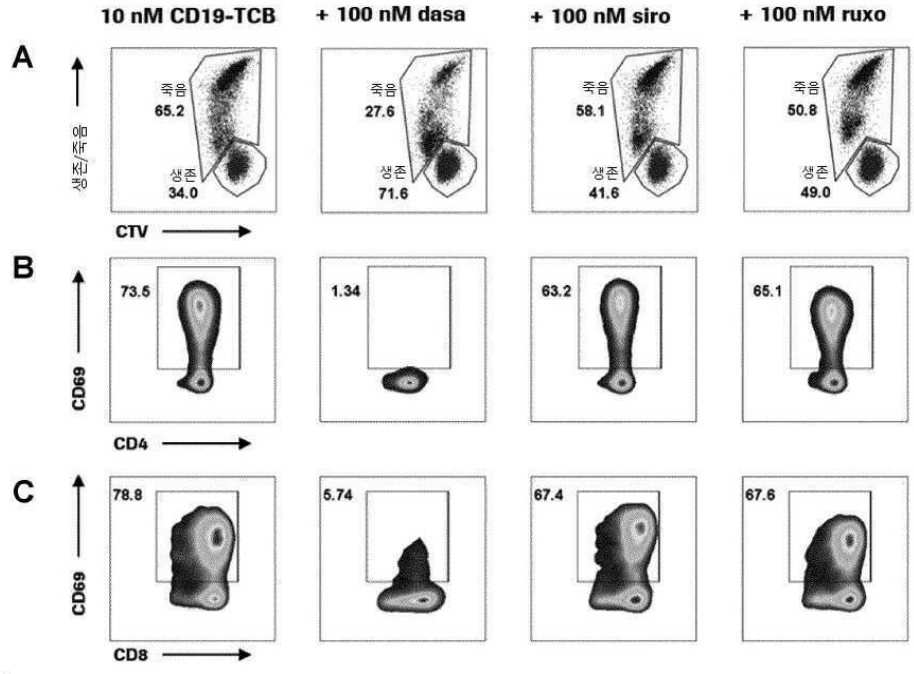
도면63


야생형 IgG
야생형 IgG + 100 nM ruxo
야생형 IgG + 100 nM siro
A
GM-CSF (pg/mL)
B
IFN-γ (pg/mL)
C
IL-2 (pg/mL)
D
TNF-α (pg/mL)
μg/mL

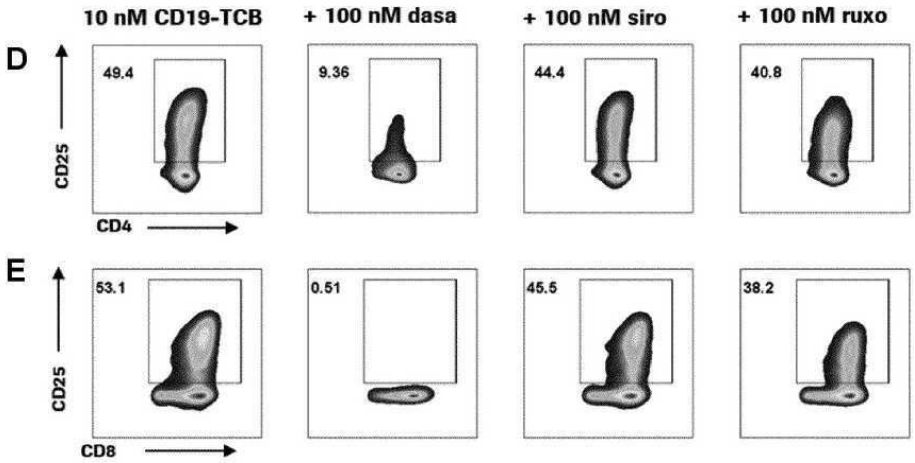
도면64



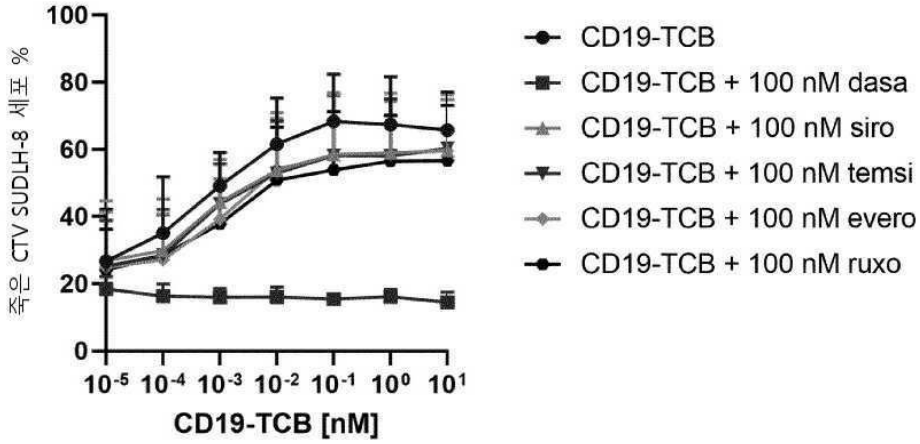
도면65abc



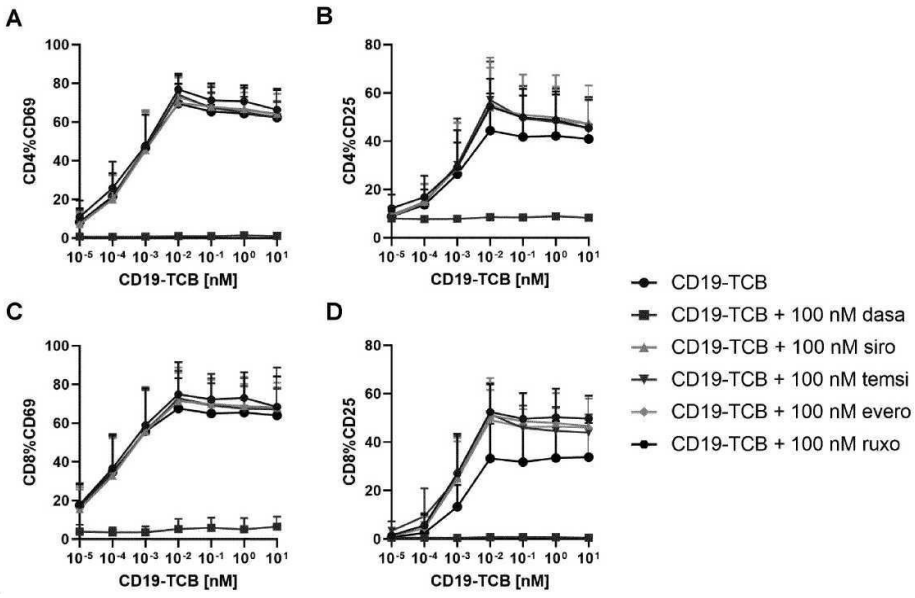
도면65de



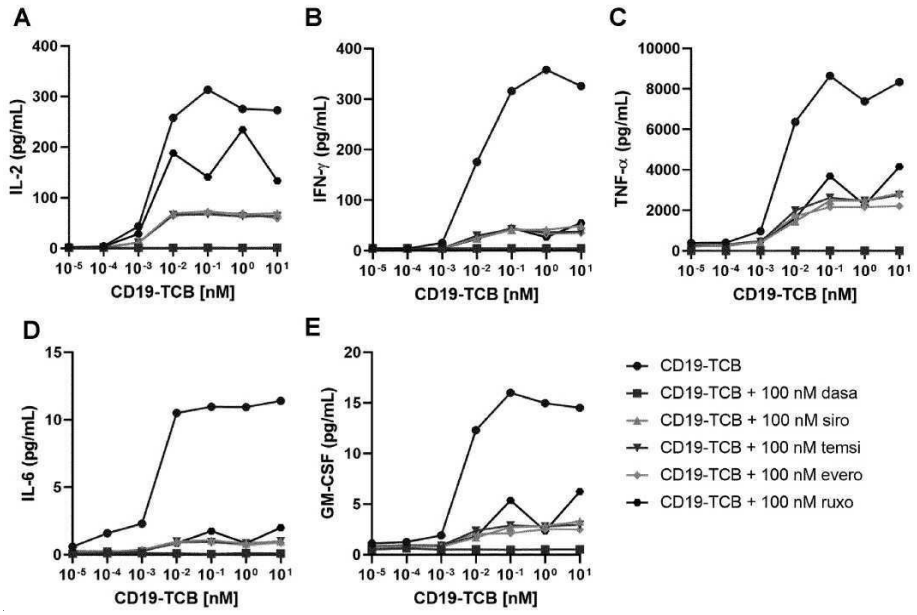
도면66



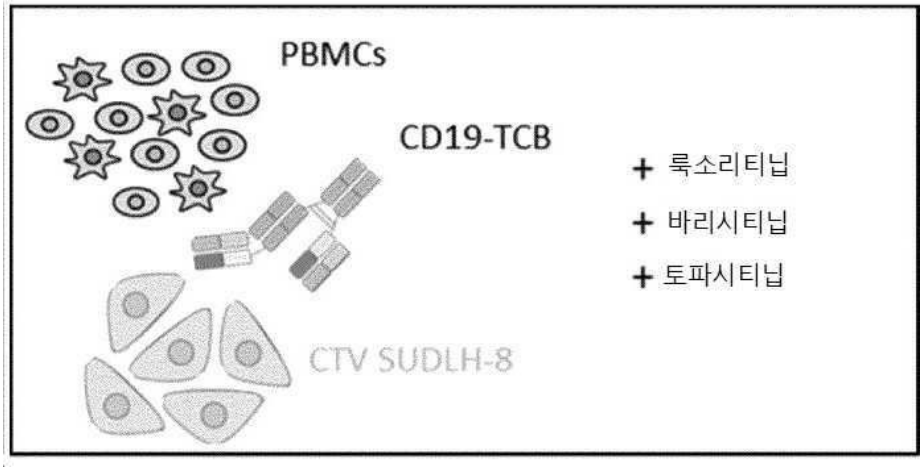
도면67



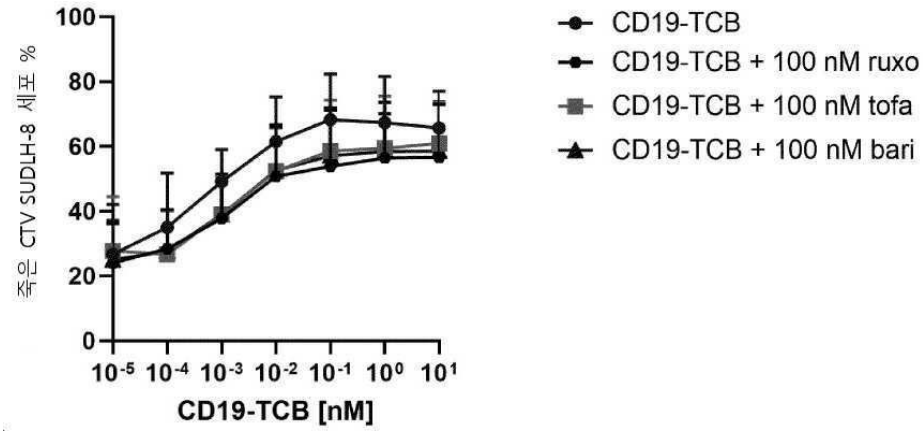
도면68



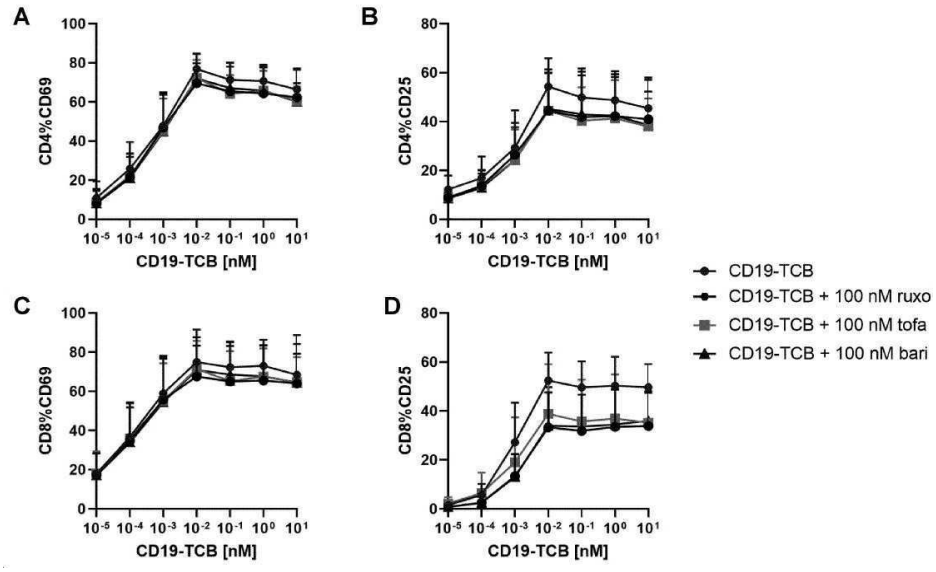
도면69



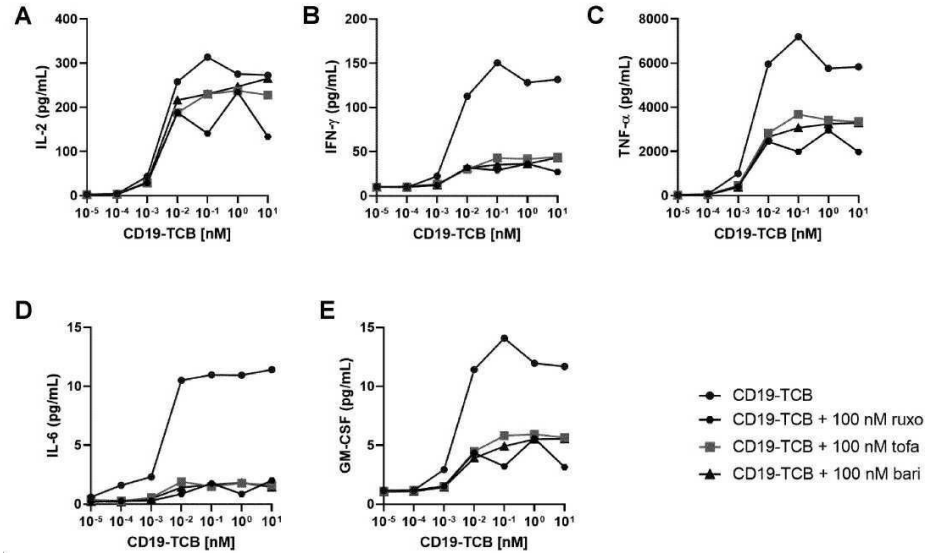
도면70



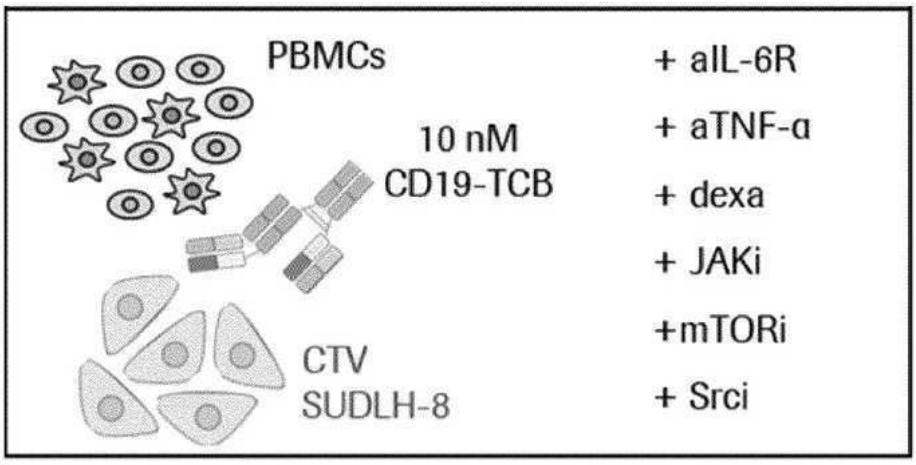
도면71



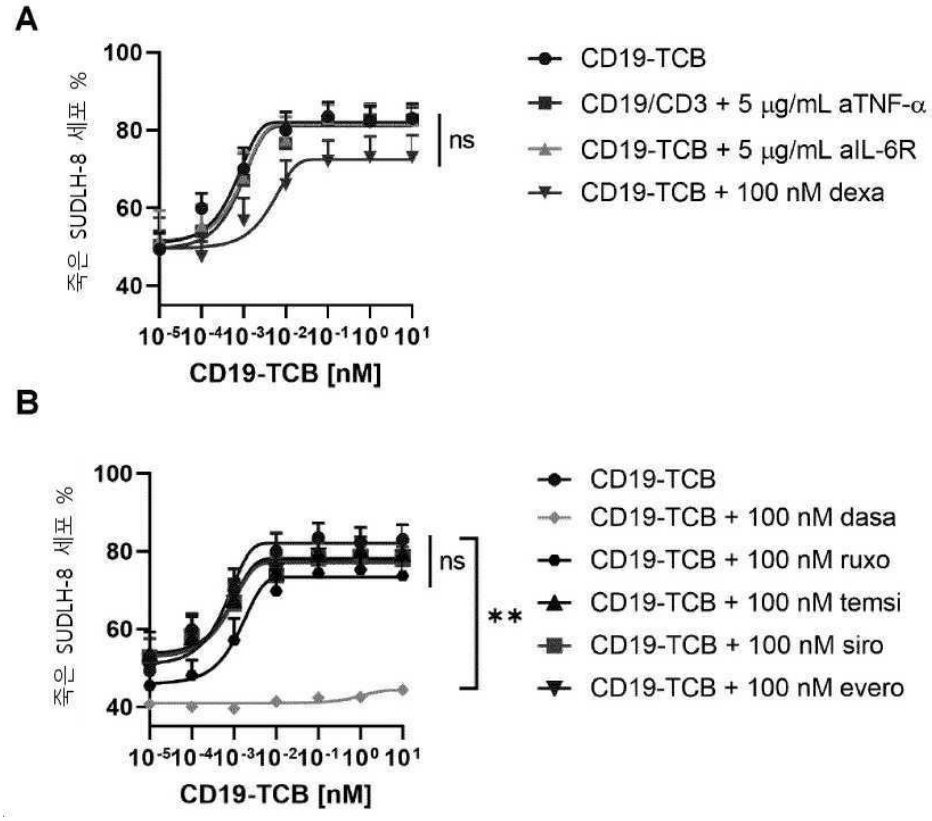
도면72



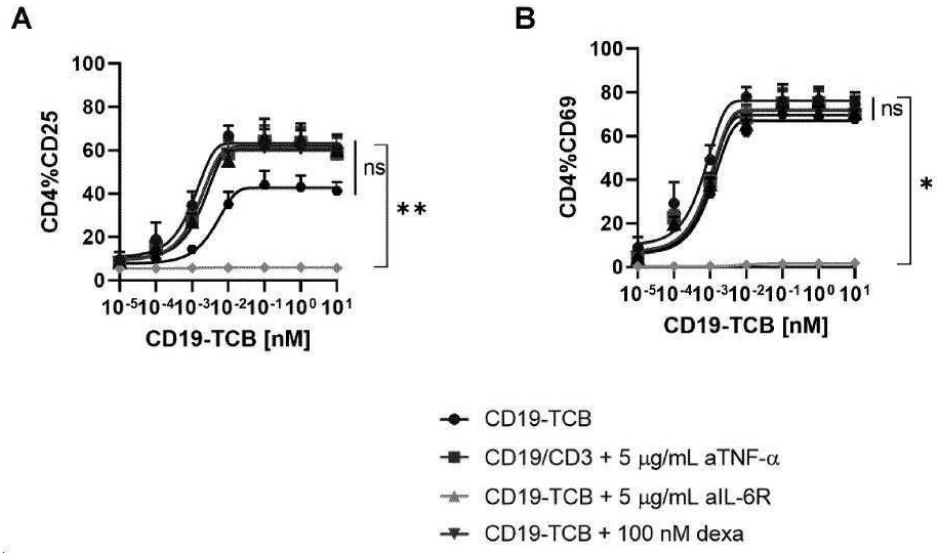
도면73



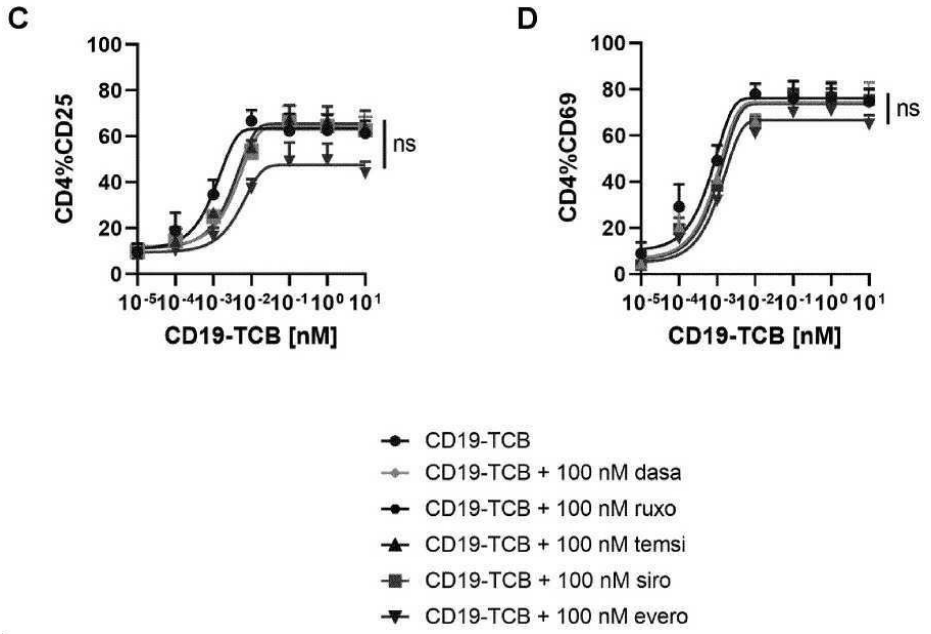
도면74


A
죽은 SUDLH-8 세포 %
CD19-TCB [nM]
ns
CD19-TCB
CD19/CD3 + 5 μg/mL aTNF-α
CD19-TCB + 5 μg/mL aIL-6R
CD19-TCB + 100 nM dexa
B
죽은 SUDLH-8 세포 %
CD19-TCB [nM]
ns
**
CD19-TCB
CD19-TCB + 100 nM dasa
CD19-TCB + 100 nM ruxo
CD19-TCB + 100 nM temsi
CD19-TCB + 100 nM siro
CD19-TCB + 100 nM evero

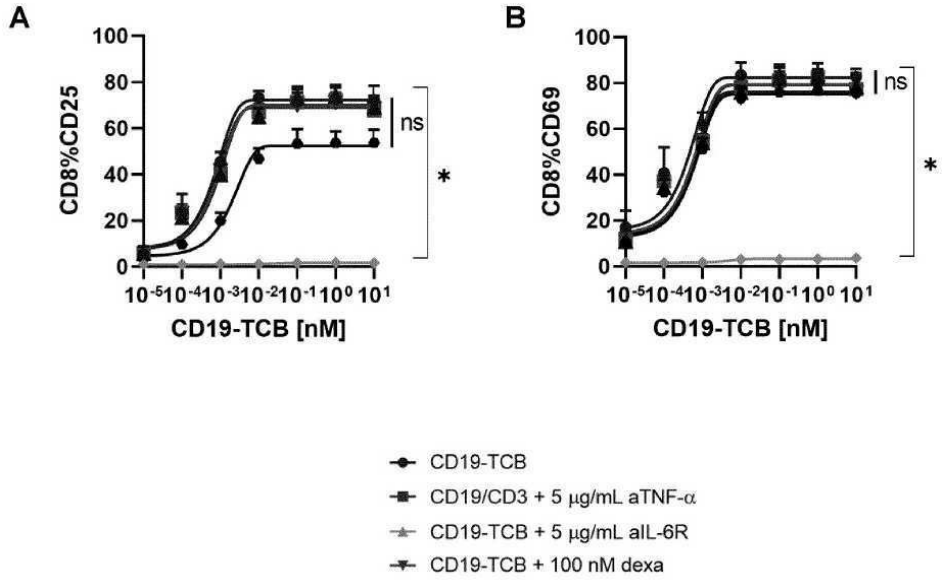
도면75ab


A
CD4%CD25
CD19-TCB [nM]
ns
**
B
CD4%CD69
CD19-TCB [nM]
ns
*
CD19-TCB
CD19/CD3 + 5 μg/mL aTNF-α
CD19-TCB + 5 μg/mL aIL-6R
CD19-TCB + 100 nM dexa

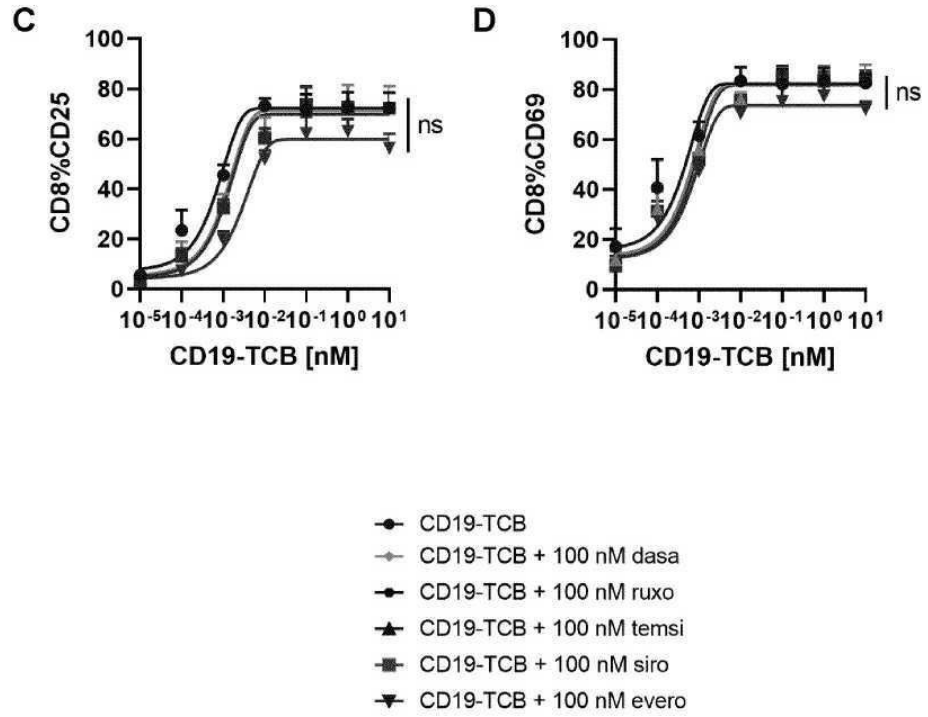
도면75cd



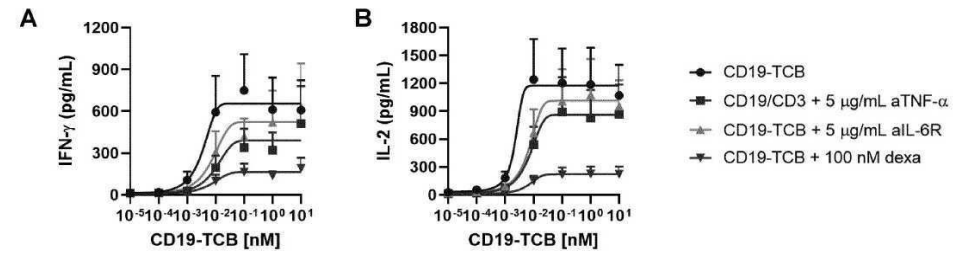
도면76ab



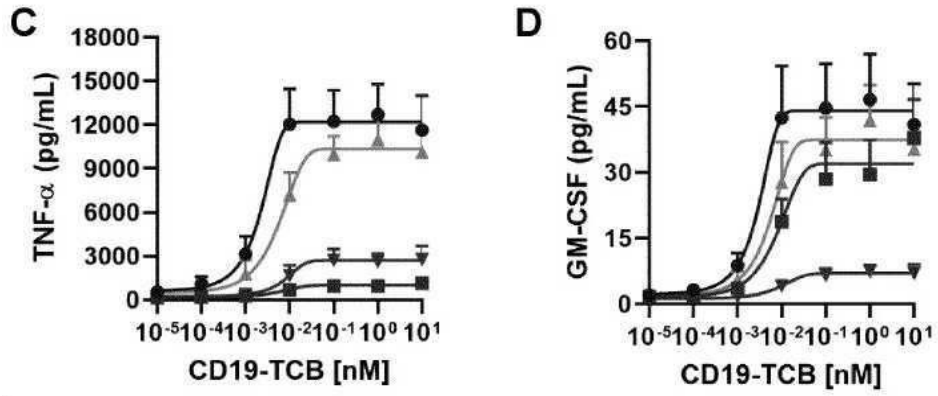
도면76cd



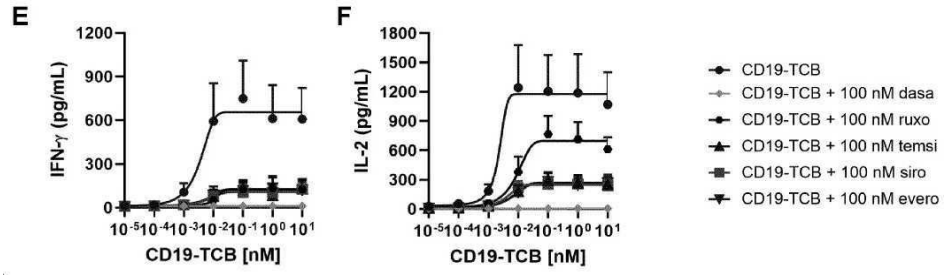
도면77ab



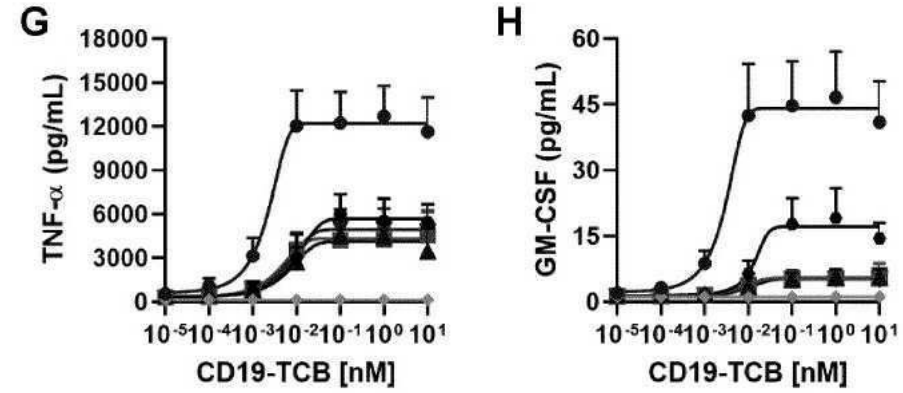
도면77cd



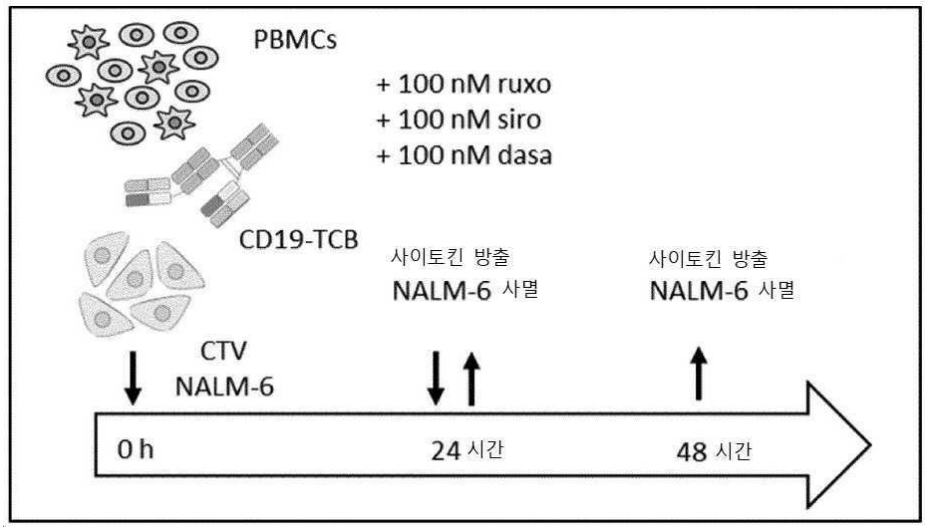
도면77ef



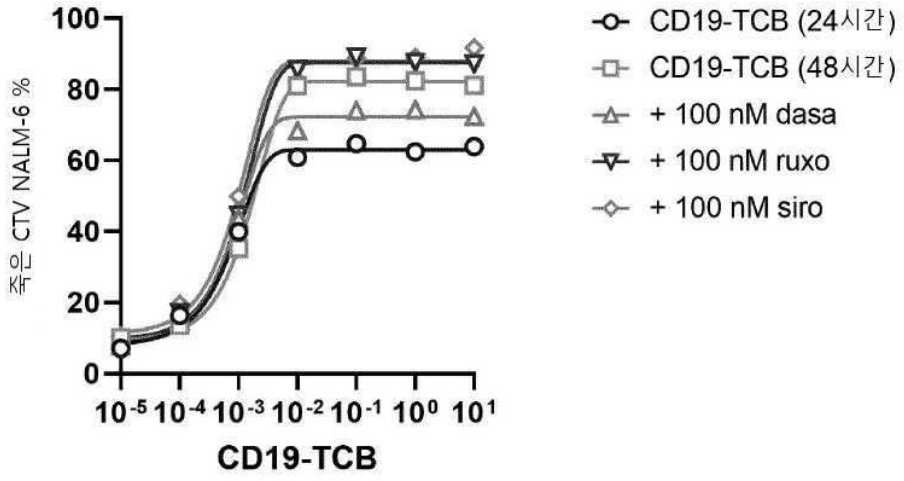
도면77gh



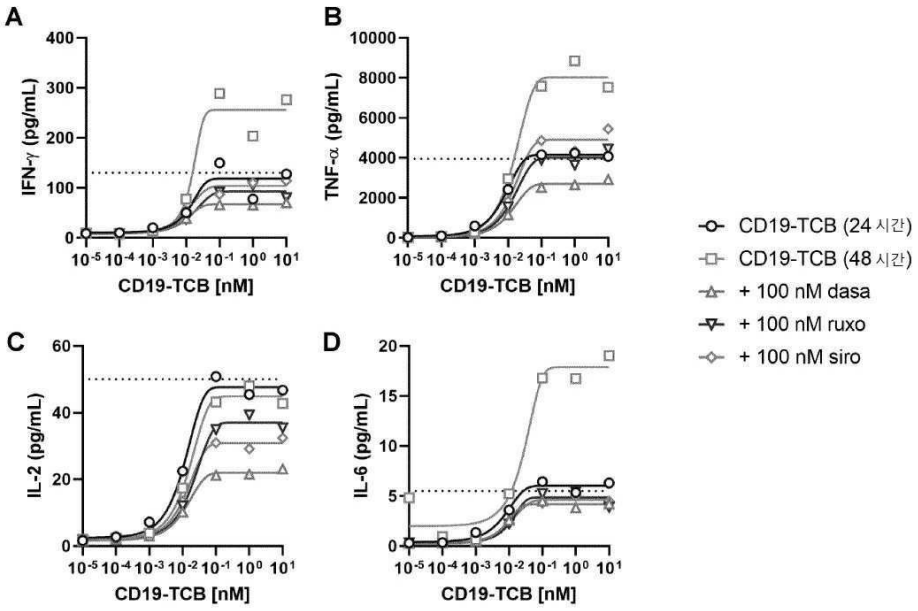
도면78



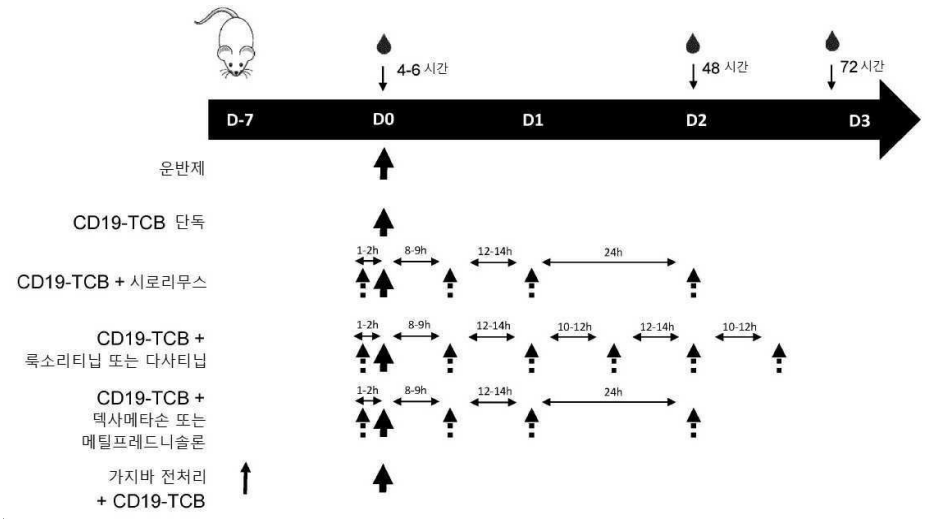
도면79


죽은 CTV NALM-6 %
100
80
60
40
20
0
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
CD19-TCB
CD19-TCB (24시간)
CD19-TCB (48시간)
+ 100 nM dasa
+ 100 nM ruxo
+ 100 nM siro

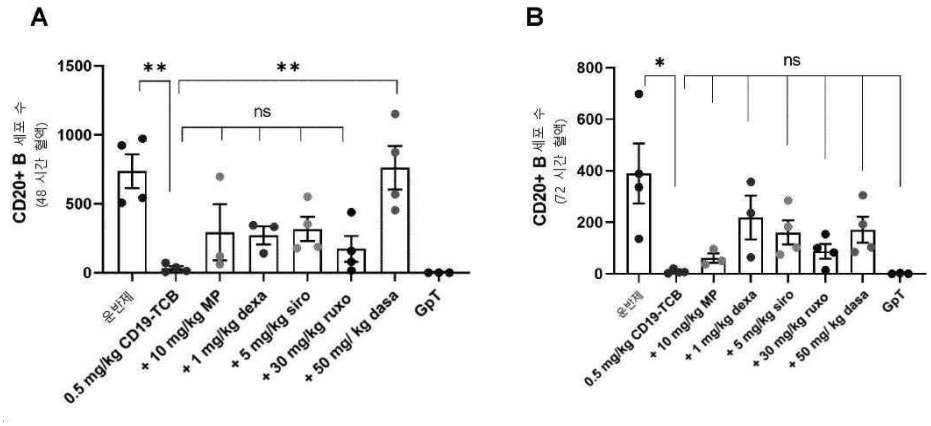
도면80


A
IFN-γ (pg/mL)
CD19-TCB [nM]
B
TNF-α (pg/mL)
CD19-TCB [nM]
C
IL-2 (pg/mL)
CD19-TCB [nM]
D
IL-6 (pg/mL)
CD19-TCB [nM]
CD19-TCB (24 시간)
CD19-TCB (48 시간)
+ 100 nM dasa
+ 100 nM ruxo
+ 100 nM siro

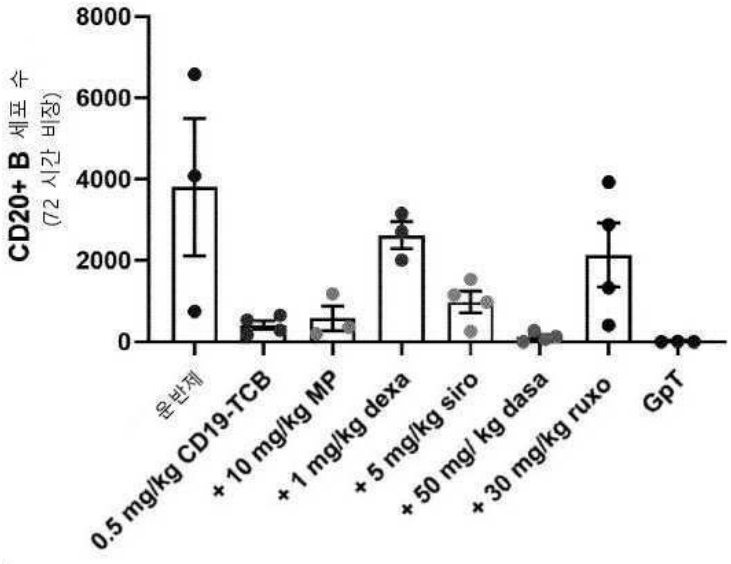
도면81



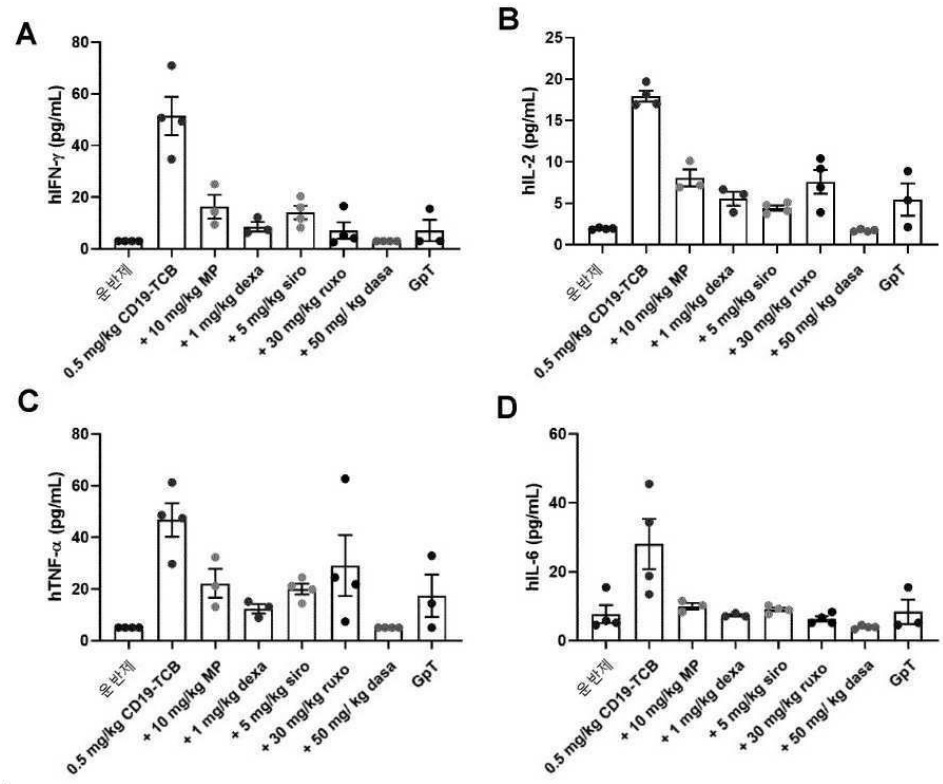
도면82



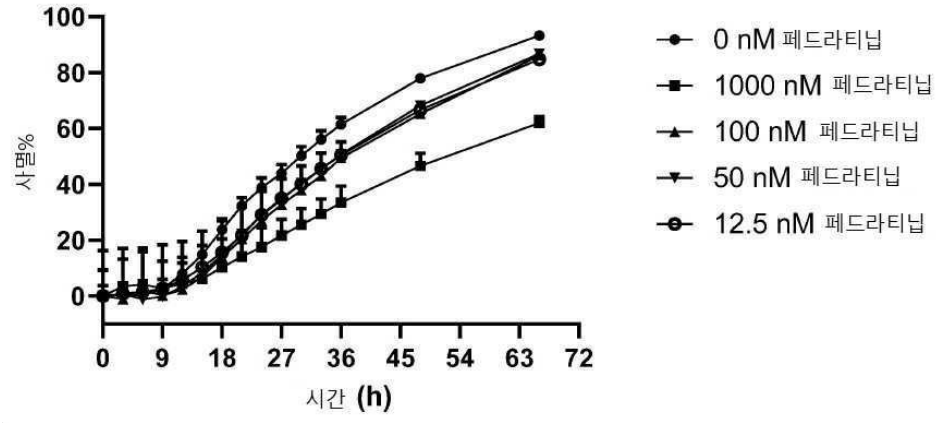
도면83



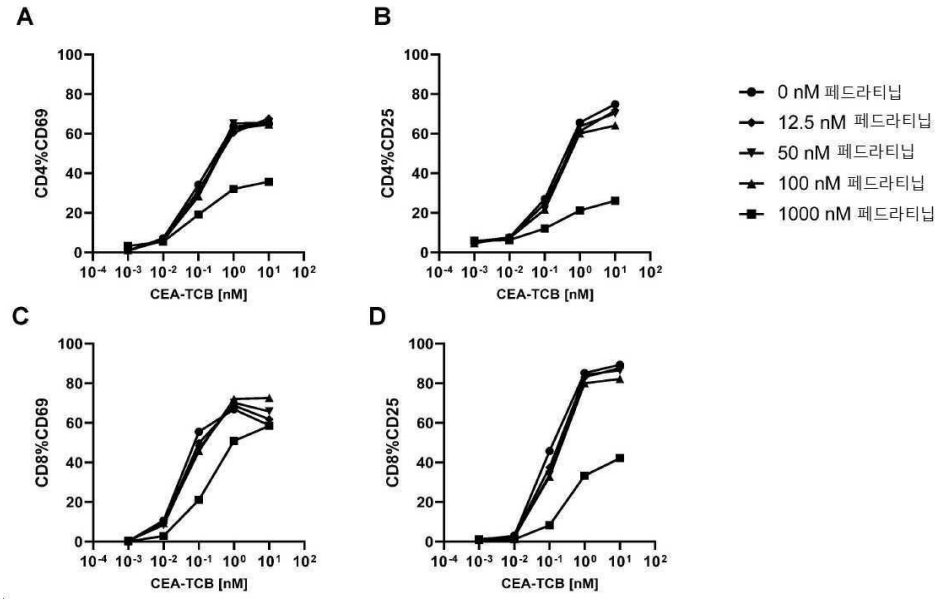
도면84


A
hIFN-γ (pg/mL)
B
hIL-2 (pg/mL)
C
hTNF-α (pg/mL)
D
hIL-6 (pg/mL)
올반제
0.5 mg/kg CD19-TCB
+ 10 mg/kg MP
+ 1 mg/kg dexa
+ 5 mg/kg siro
+ 30 mg/kg ruxo
+ 50 mg/ kg dasa
GpT

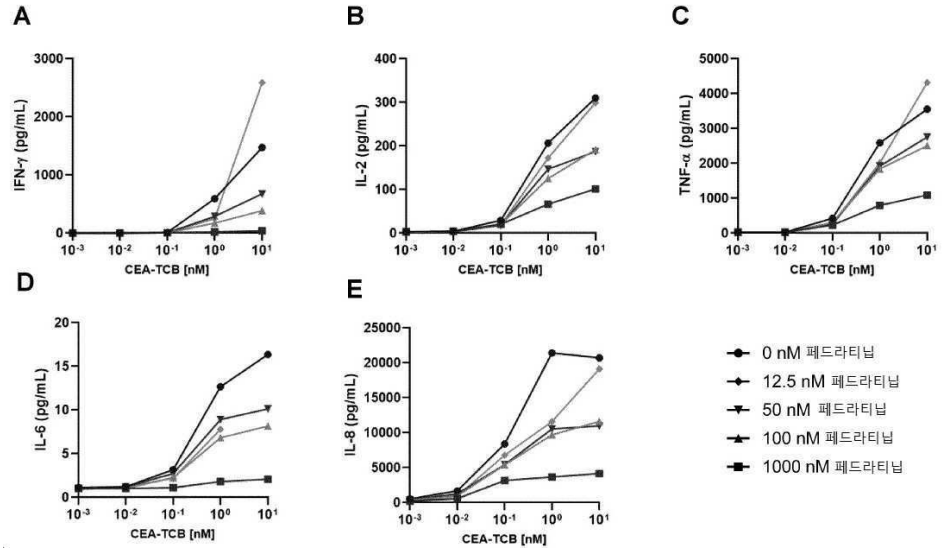
도면85


사멸%
시간 (h)
0 nM 페드라티닙
1000 nM 페드라티닙
100 nM 페드라티닙
50 nM 페드라티닙
12.5 nM 페드라티닙

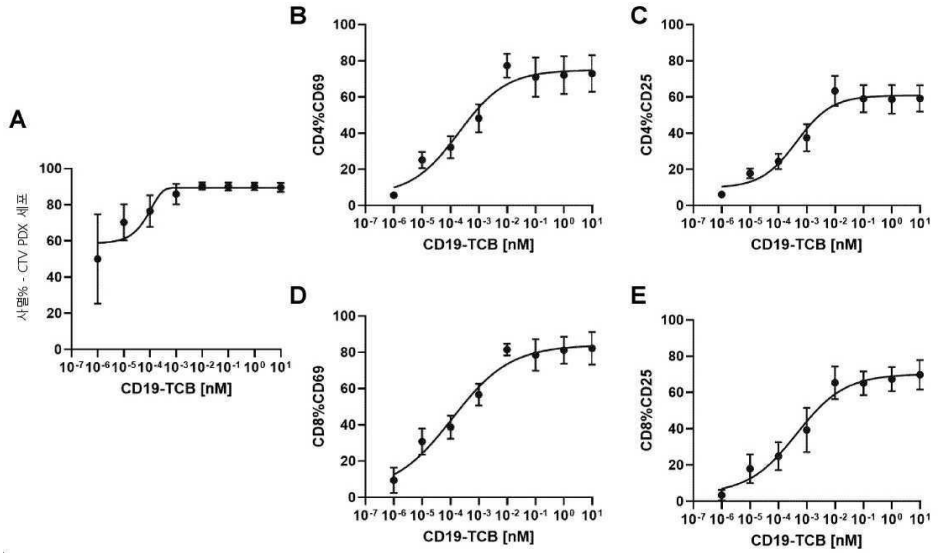
도면86


A
B
C
D
CD4%CD69
CD4%CD25
CD8%CD69
CD8%CD25
CEA-TCB [nM]
0 nM 페드라티닙
12.5 nM 페드라티닙
50 nM 페드라티닙
100 nM 페드라티닙
1000 nM 페드라티닙

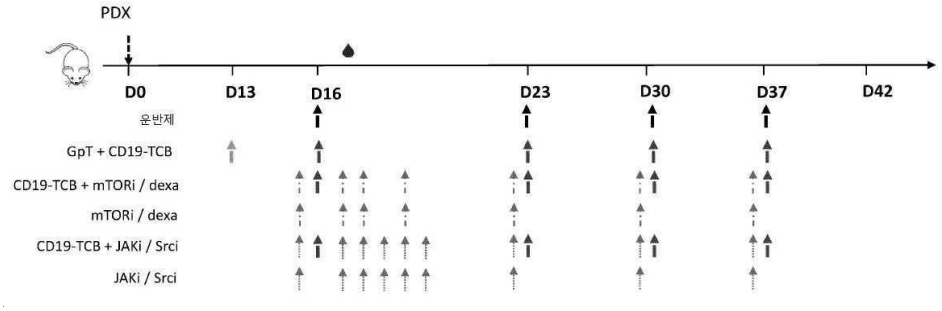
도면87


A
B
C
D
E
IFN-γ (pg/mL)
IL-2 (pg/mL)
TNF-α (pg/mL)
IL-6 (pg/mL)
IL-8 (pg/mL)
CEA-TCB [nM]
0 nM 페드라티닙
12.5 nM 페드라티닙
50 nM 페드라티닙
100 nM 페드라티닙
1000 nM 페드라티닙

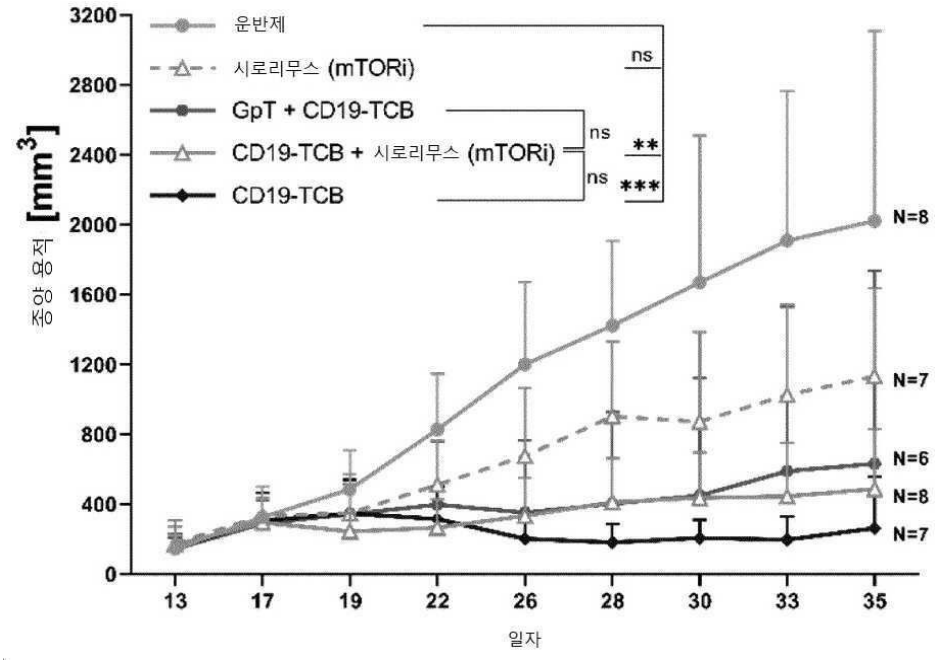
도면88



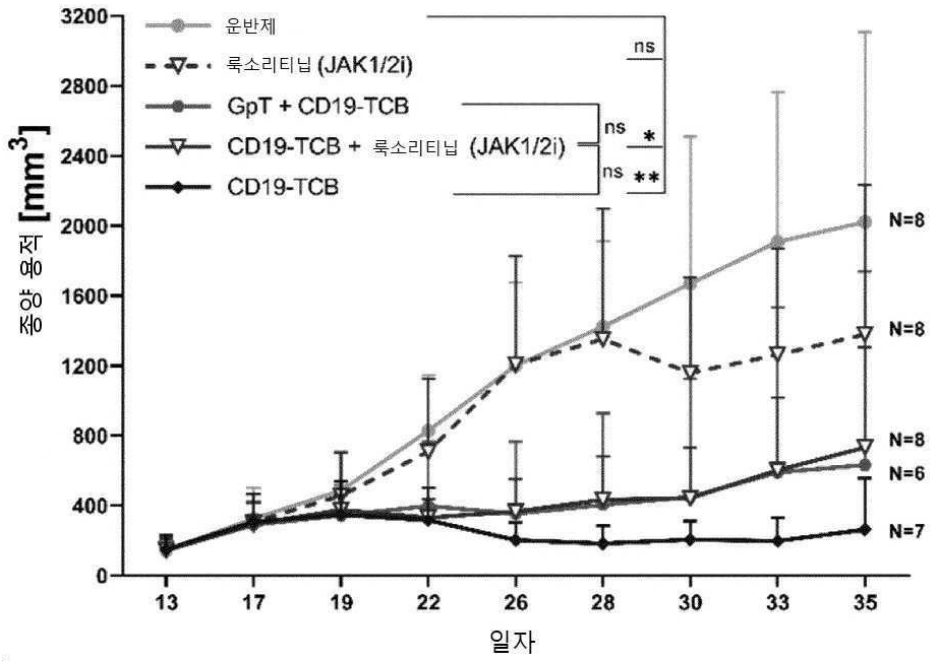
도면89



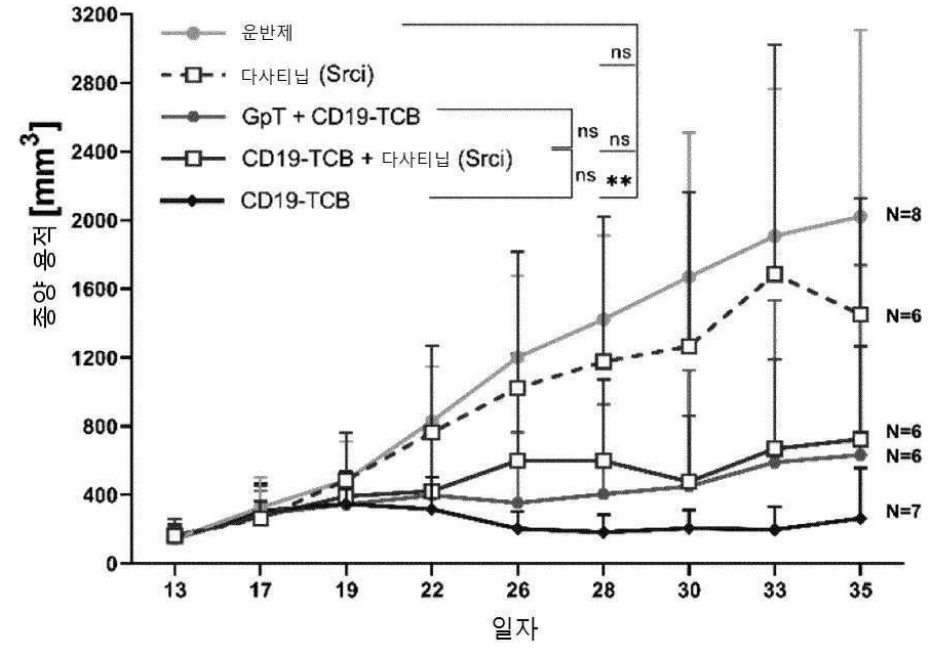
도면90



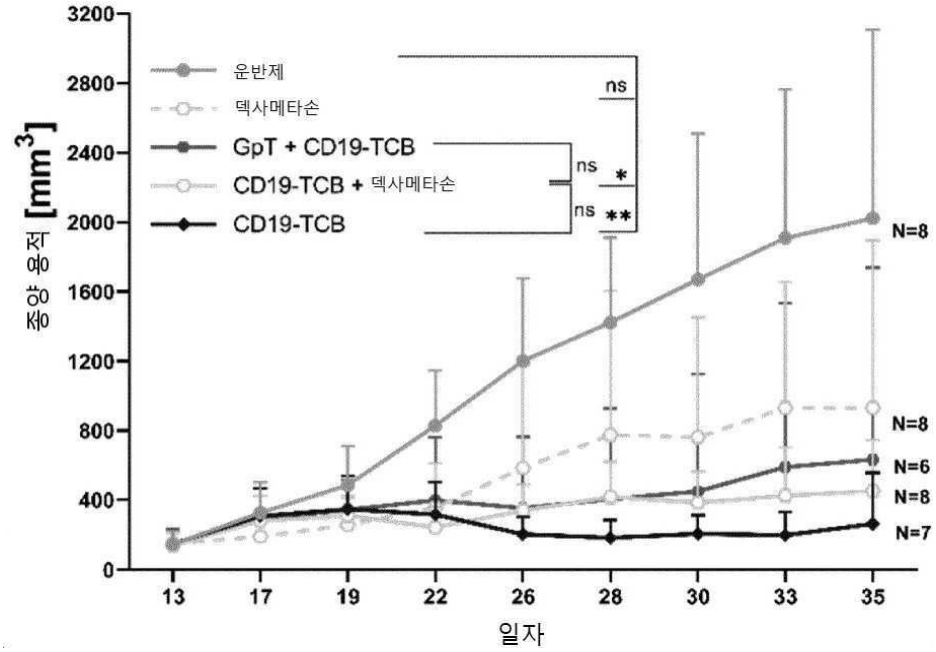
도면91


운반제
룩소리티닙 (JAK1/2i)
GpT + CD19-TCB
CD19-TCB + 룩소리티닙 (JAK1/2i)
CD19-TCB
ns
ns
*
ns
**
N=8
N=8
N=8
N=6
N=7
종양 용적 [mm3]
3200
2800
2400
2000
1600
1200
800
400
0
13
17
19
22
26
28
30
33
35
일자

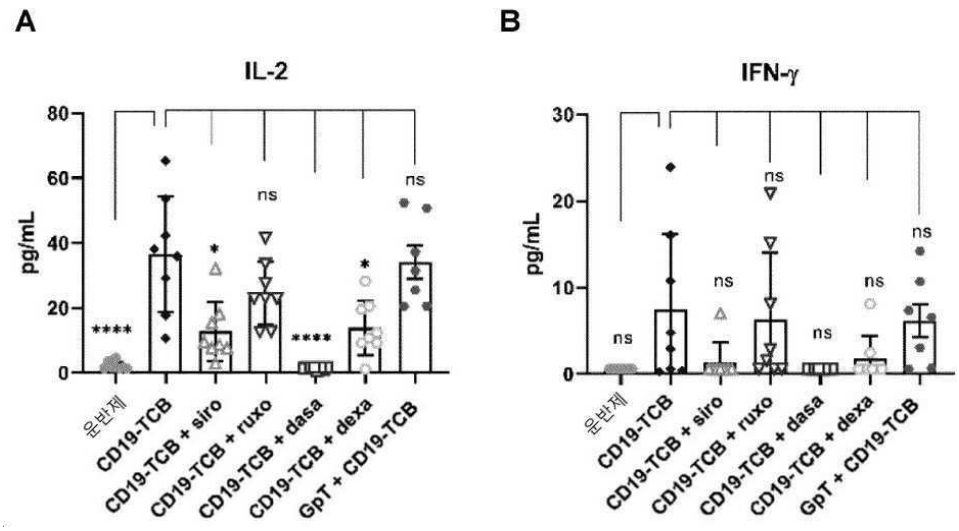
도면92


운반제
다사티닙 (Srci)
GpT + CD19-TCB
CD19-TCB + 다사티닙 (Srci)
CD19-TCB
ns
ns
ns
ns
**
N=8
N=6
N=6
N=6
N=7
종양 용적 [mm3]
3200
2800
2400
2000
1600
1200
800
400
0
13
17
19
22
26
28
30
33
35
일자

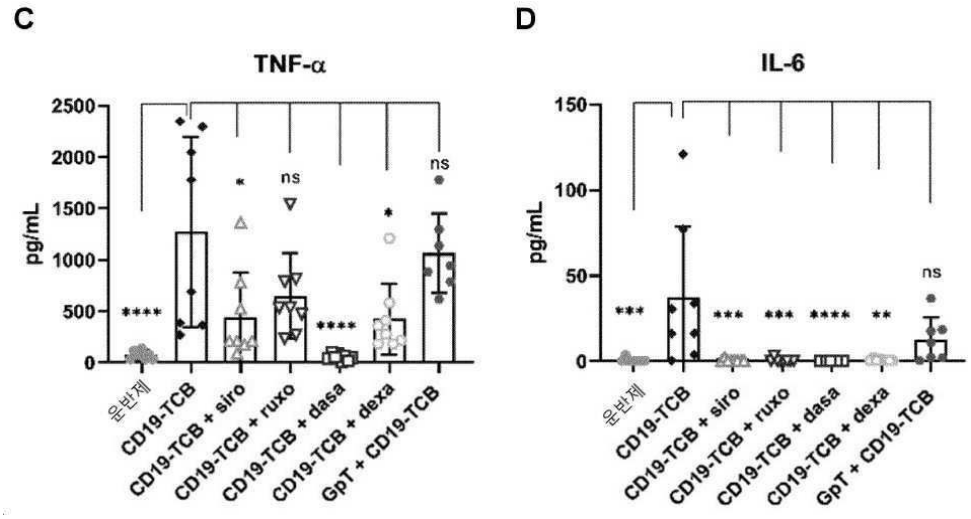
도면93


종양 용적 [mm3]
3200
2800
2400
2000
1600
1200
800
400
0
운반제
덱사메타손
GpT + CD19-TCB
CD19-TCB + 덱사메타손
CD19-TCB
ns
ns
*
ns
**
N=8
N=8
N=6
N=8
N=7
13
17
19
22
26
28
30
33
35
일자

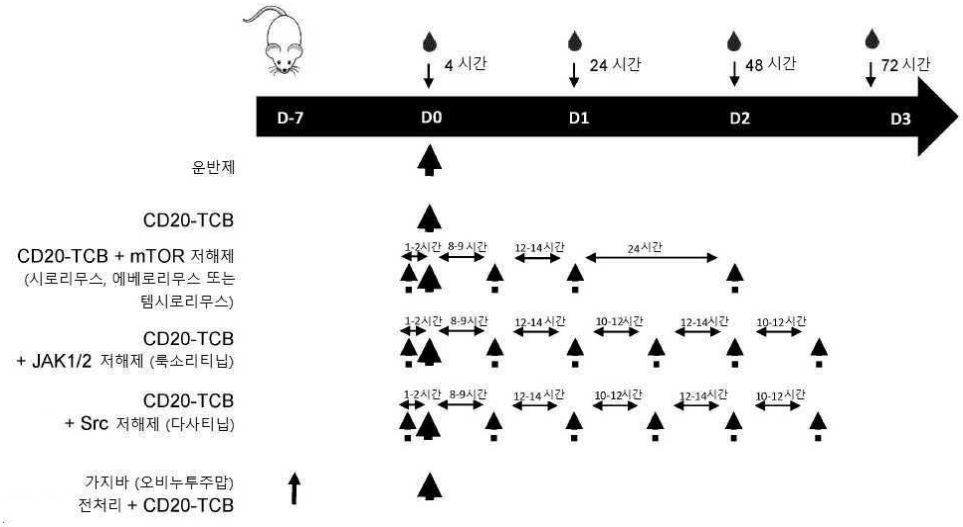
도면94ab


A
IL-2
pg/mL
80
60
40
20
0
****
ns
*
ns
****
*
ns
운반제
CD19-TCB
CD19-TCB + siro
CD19-TCB + ruxo
CD19-TCB + dasa
CD19-TCB + dexa
GpT + CD19-TCB
B
IFN-γ
pg/mL
30
20
10
0
ns
ns
ns
ns
ns
ns
운반제
CD19-TCB
CD19-TCB + siro
CD19-TCB + ruxo
CD19-TCB + dasa
CD19-TCB + dexa
GpT + CD19-TCB

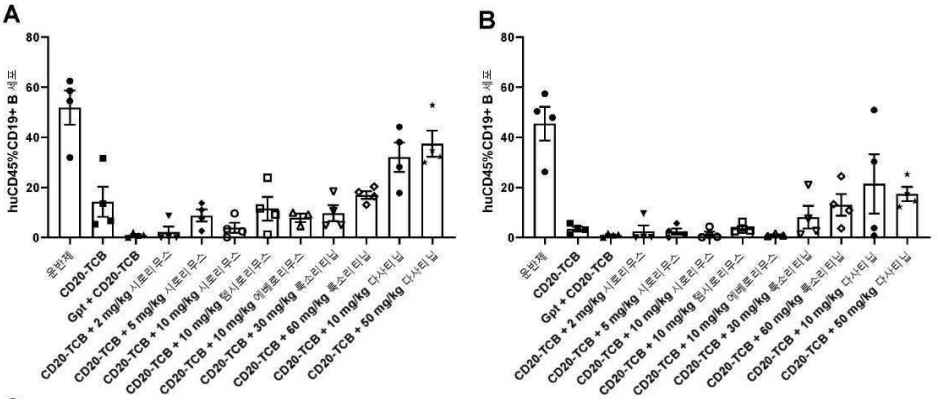
도면94cd


C
TNF-α
pg/mL
2500
2000
1500
1000
500
0
****
*
ns
****
*
ns
운반제
CD19-TCB
CD19-TCB + siro
CD19-TCB + ruxo
CD19-TCB + dasa
CD19-TCB + dexa
GpT + CD19-TCB
D
IL-6
pg/mL
150
100
50
0
***
***
***
****
**
ns
운반제
CD19-TCB
CD19-TCB + siro
CD19-TCB + ruxo
CD19-TCB + dasa
CD19-TCB + dexa
GpT + CD19-TCB

도면95


4 시간
24 시간
48 시간
72 시간
D-7
D0
D1
D2
D3
운반제
CD20-TCB
CD20-TCB + mTOR 저해제
(시로리무스, 에베로리무스 또는
템시로리무스)
CD20-TCB
+ JAK1/2 저해제 (룩소리티닙)
CD20-TCB
+ Src 저해제 (다사티닙)
가지바 (오비누투주맙)
전처리 + CD20-TCB
1-2시간
8-9시간
12-14시간
24시간
10-12시간

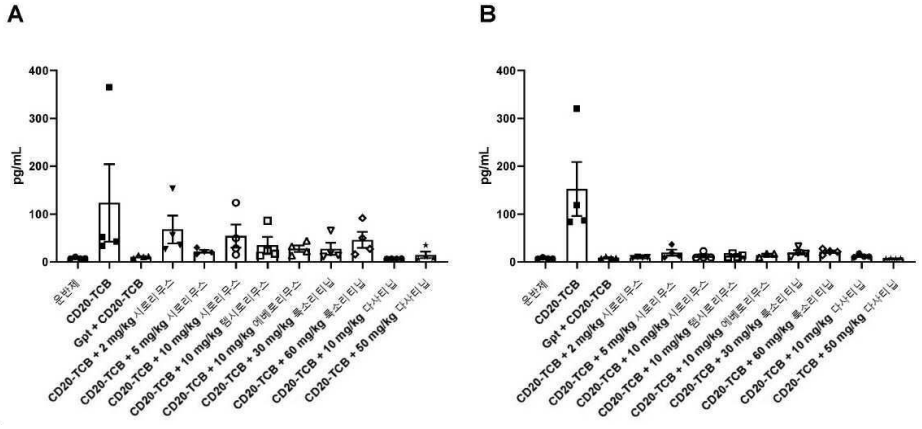
도면96



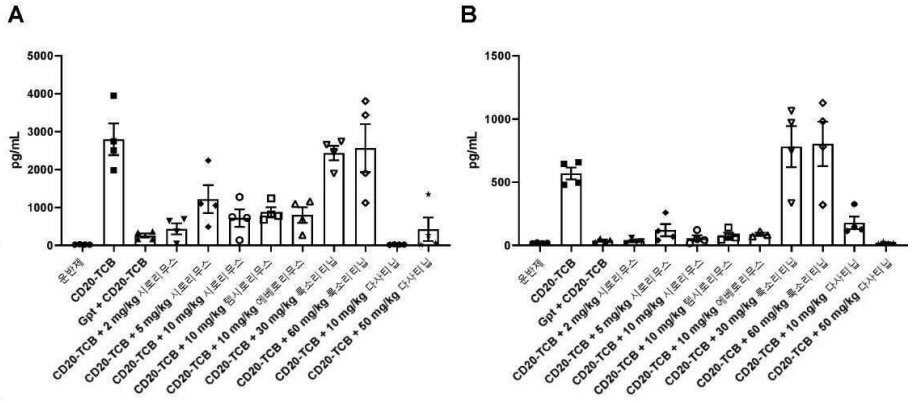
C

		CD20-TCB	Gpt + CD20-TCB	CD20-TCB + 2 mg/kg 시로리무스	CD20-TCB + 5 mg/kg 시로리무스	CD20-TCB + 10 mg/kg 시로리무스	CD20-TCB + 10 mg/kg 템시로리무스	CD20-TCB + 10 mg/kg 에베로리무스	CD20-TCB + 30 mg/kg 룩소리티닙	CD20-TCB + 60 mg/kg 룩소리티닙	CD20-TCB + 10 mg/kg 다사티닙	CD20-TCB + 50 mg/kg 다사티닙
48 시간	p 값	0.487	0.001	0.001	0.169	0.009	0.256	0.176	0.209	>0.999	>0.999	>0.999
	요약	ns	**	**	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
72 시간	p 값	0.292	0.007	0.007	0.048	0.012	0.379	0.019	0.697	>0.999	>0.999	>0.999
	요약	ns	**	**	*	*	ns	*	ns	ns	ns	ns

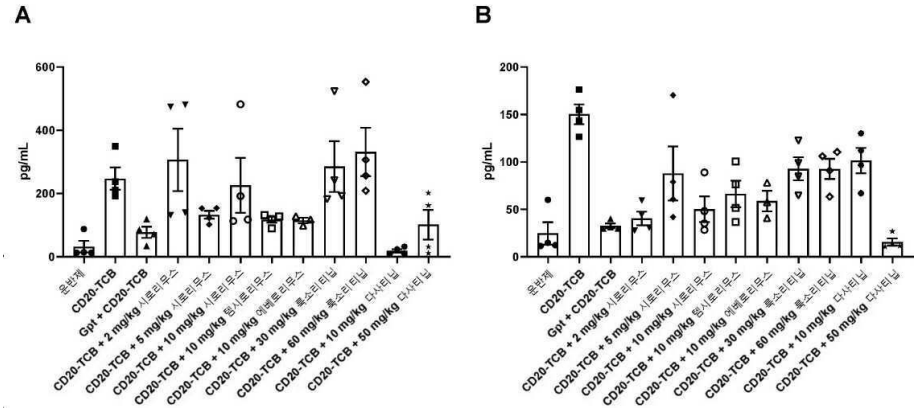
도면97



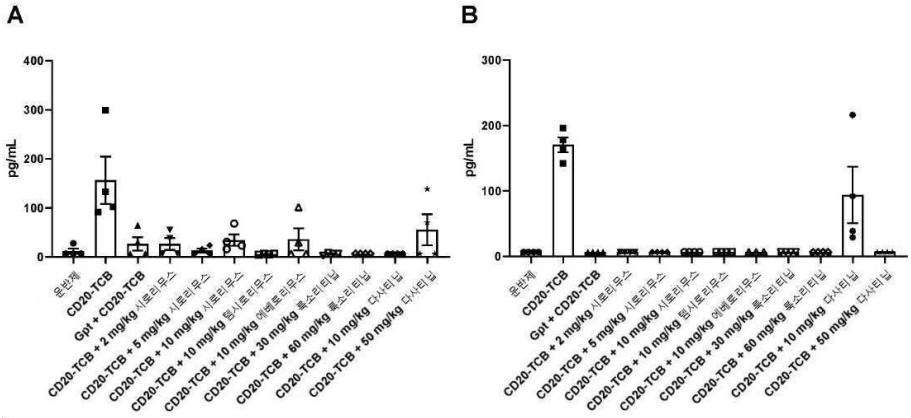
도면98



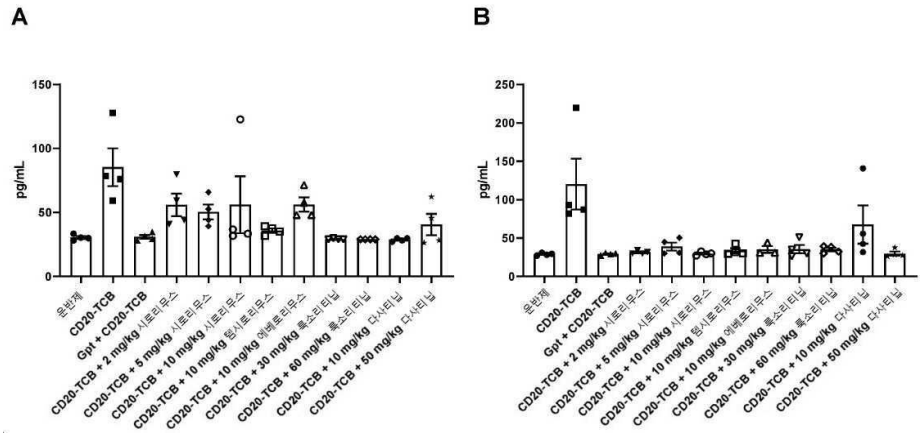
도면99



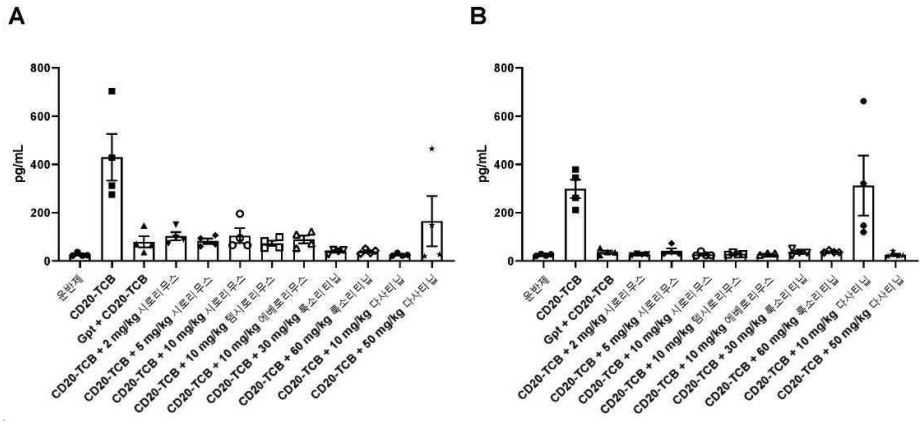
도면100



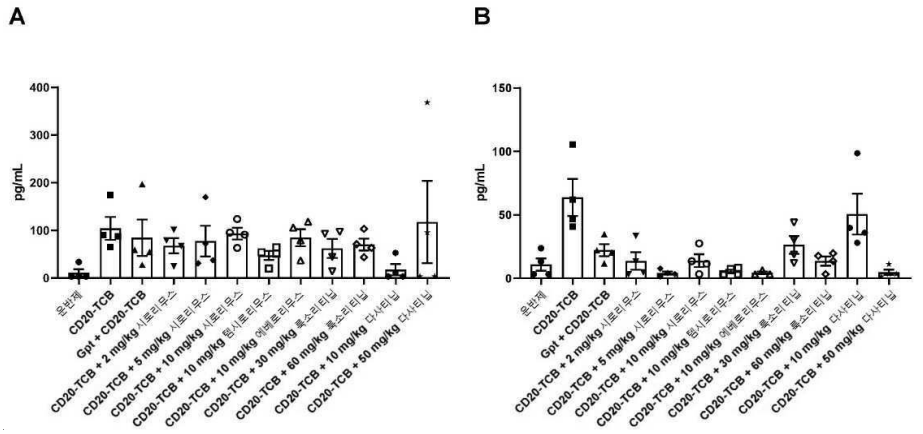
도면101



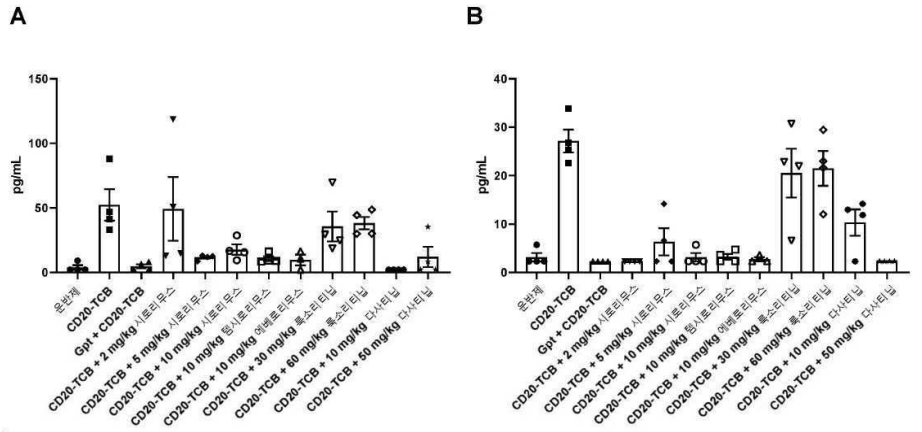
도면102



도면103



도면104



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> F. Hoffmann-La Roche AG

<120> Prevention or mitigation of T-cell engaging agent-related adverse

effects

<130> P36507

<140> PCT/EP2021/080888

<141> 2021-11-08

<150> EP20206567.8

<151> 2020-11-10

<150> EP21155823.4

<151> 2021-02-08

<150> EP21172623.7

<151> 2021-05-07

<150> EP21187472.2

<151> 2021-07-23

<160> 80

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 207

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser

1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr

20 25 30

Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr

35 40 45

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys

50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp

65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met

115 120 125

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

130 135 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys

145 150 155 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn

165 170 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg

180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile

195 200 205

<210> 2

<211> 198

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 2

Met Gln Ser Gly Thr Arg Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser

1 5 10 15

Ile Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Ser Ile Thr

20 25 30

Gln Thr Pro Tyr Gln Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr

35 40 45

Cys Ser Gln His Leu Gly Ser Glu Ala Gln Trp Gln His Asn Gly Lys

50 55 60

Asn Lys Glu Asp Ser Gly Asp Arg Leu Phe Leu Pro Glu Phe Ser Glu

65 70 75 80

Met Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Asn Pro

85 90 95

Glu Asp Ala Ser His His Leu Tyr Leu Lys Ala Arg Val Cys Glu Asn

100 105 110

Cys Met Glu Met Asp Val Met Ala Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp
115 120 125

Ile Cys Ile Thr Leu Gly Leu Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys
130 135 140

Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly
145 150 155 160

Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn
165 170 175

Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg Lys Gly Gln Gln Asp Leu Tyr Ser Gly
180 185 190

Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195

<210> 3

<211> 225

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

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

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

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

210 215 220

Pro

225

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 4

Thr Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 5

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 5

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

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 6

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic construct

<400> 6

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

1 5 10

<210> 7

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 7

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 8

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 9

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val

1 5

<210> 10

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 10

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 11

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 11

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 12

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 12

Glu Phe Gly Met Asn

1 5

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 13

Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 14

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 14

Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 15

Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr Val Ala

1 5 10

<210> 16

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 16

Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg

1 5

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 17

His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu Phe Thr

1 5 10

<210> 18

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 18

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 19

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400

> 19

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 20

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 21

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 21

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

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

340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 22

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 22

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser

20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly

35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu

165 170 175

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr

180 185 190

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys

195 200 205

Val Glu Pro Lys Ser Cys

210

<210> 23

<211> 694

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 23

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Phe

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser

245 250 255

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val

260 265 270

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His

325 330 335

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

340 345 350

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val

355 360 365

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser

370 375 380

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln

385 390 395 400

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val

405 410 415

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu

420 425 430

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

435 440 445

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg

450 455 460

Gly Glu Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

465 470 475 480

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

485 490 495

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

500 505 510

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

515 520 525

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

530 535 540

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

545 550 555 560

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly

565 570 575

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

580 585 590

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn

595 600 605

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

660 665 670

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

675 680 685

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

690

<210> 24

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 24

Tyr Ser Trp Ile Asn

1 5

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 25

Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 26

Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr

1 5 10

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 27

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr

1 5 10 15

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 28

Gln Met Ser Asn Leu Val Ser

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 29

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 30

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 30

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

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

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 31

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 31

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

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn

85 90 95

Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 32

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 32

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn

85 90 95

Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg

115 120 125

Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 33

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 33

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
355 360 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 34
<211> 232
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic construct
<400> 34
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val
115 120 125
Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
145 150 155 160
Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
165 170 175
Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

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

<210> 35
<211> 672
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic construct
<400> 35

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

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

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly
210 215 220
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu
225 230 235 240
Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly
245 250 255

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln
260 265 270
Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys
275 280 285
Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
290 295 300
Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
305 310 315 320

Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly
325 330 335
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
340 345 350
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

355 360 365

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

405 410 415

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

420 425 430

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

435 440 445

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly

450 455 460

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

465 470 475 480

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

485 490 495

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

500 505 510

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

515 520 525

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

530 535 540

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu

545 550 555 560

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

565 570 575

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

580 585 590

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

595 600 605

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
610 615 620
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
625 630 635 640

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
645 650 655
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
660 665 670

<210> 36
<211> 297
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 36

Met Thr Thr Pro Arg Asn Ser Val Asn Gly Thr Phe Pro Ala Glu Pro
1 5 10 15
Met Lys Gly Pro Ile Ala Met Gln Ser Gly Pro Lys Pro Leu Phe Arg

20 25 30
Arg Met Ser Ser Leu Val Gly Pro Thr Gln Ser Phe Phe Met Arg Glu
35 40 45
Ser Lys Thr Leu Gly Ala Val Gln Ile Met Asn Gly Leu Phe His Ile
50 55 60
Ala Leu Gly Gly Leu Leu Met Ile Pro Ala Gly Ile Tyr Ala Pro Ile
65 70 75 80
Cys Val Thr Val Trp Tyr Pro Leu Trp Gly Gly Ile Met Tyr Ile Ile

85 90 95
Ser Gly Ser Leu Leu Ala Ala Thr Glu Lys Asn Ser Arg Lys Cys Leu
100 105 110
Val Lys Gly Lys Met Ile Met Asn Ser Leu Ser Leu Phe Ala Ala Ile
115 120 125
Ser Gly Met Ile Leu Ser Ile Met Asp Ile Leu Asn Ile Lys Ile Ser
130 135 140

His Phe Leu Lys Met Glu Ser Leu Asn Phe Ile Arg Ala His Thr Pro

145 150 155 160

Tyr Ile Asn Ile Tyr Asn Cys Glu Pro Ala Asn Pro Ser Glu Lys Asn

165 170 175

Ser Pro Ser Thr Gln Tyr Cys Tyr Ser Ile Gln Ser Leu Phe Leu Gly

180 185 190

Ile Leu Ser Val Met Leu Ile Phe Ala Phe Phe Gln Glu Leu Val Ile

195 200 205

Ala Gly Ile Val Glu Asn Glu Trp Lys Arg Thr Cys Ser Arg Pro Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Lys Asn Glu Glu Asp Ile Glu Ile Ile Pro Ile Gln Glu Glu Glu Glu

260 265 270

Glu Glu Thr Glu Thr Asn Phe Pro Glu Pro Pro Gln Asp Gln Glu Ser

275 280 285

Ser Pro Ile Glu Asn Asp Ser Ser Pro

290 295

<210> 37

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 37

Gly Tyr Thr Met Asn

1 5

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 38

Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 39

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 39

Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 40

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic construct

<400> 41

Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 42

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 43

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 43

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

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

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

Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 44

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 45

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 45

Lys Ala Met Ser

1

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Synthetic construct

<400> 46

Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Asp Asn Val Leu

1 5 10 15

Gly

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 47

Asp Val Gly Phe Phe Asp Glu

1 5

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 48

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 49

Asp Ala Ser Ile Arg Asp Ile

1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 50

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 51

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400>

51

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

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Tyr Phe Ser Phe Lys Ala Met
20 25 30

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

Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Asp Asn Val Leu Gly
50 55 60

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

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

Asp Val Gly Phe Phe Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 52

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 52

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ile Arg Asp Ile Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 53
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic construct
<400> 53
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 54

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 54

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

1 5 10 15

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Tyr Phe Ser Phe Lys Ala Met

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Asp Asn Val Leu Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Val Gly Phe Phe Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

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

115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu

130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

195 200 205

Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

275 280 285

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

290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg

340 345 350

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly

355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400
Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

420 425 430
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 55
<211> 229
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic construct
<400> 55
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro
115 120 125

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
130 135 140
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
145 150 155 160

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

Asn Arg Gly Glu Cys
225

<210> 56
<211> 665
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic construct
<400> 56
Ala Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
1 5 10 15
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Tyr Phe Ser Phe Lys Ala Met
20 25 30
Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Ser
35 40 45

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

Asp Val Gly Phe Phe Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

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

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

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp
245 250 255
Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
260 265 270
Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
275 280 285
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
290 295 300

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn
305 310 315 320
Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser
325 330 335
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

340 345 350

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp

355 360 365

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

370 375 380

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

385 390 395 400

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

405 410 415

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

420 425 430

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

435 440 445

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

450 455 460

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

465 470 475 480

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

485 490 495

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

500 505 510

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

515 520 525

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

530 535 540

Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

545 550 555 560

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

565 570 575

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe

580 585 590

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
595 600 605

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
610 615 620

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
625 630 635 640

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
645 650 655

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
660 665

<210> 57

<211> 317

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Met Ser Ser Glu Gln Lys Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Val
1 5 10 15

Glu Ala Gln Glu Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Thr
20 25 30

Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Val Ser Ser Ser Ser Pro Leu Val Pro
35 40 45

Gly Thr Leu Glu Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Ala Gly Pro Pro Gln
50 55 60

Ser Pro Gln Gly Ala Ser Ala Leu Pro Thr Thr Ile Ser Phe Thr Cys
65 70 75 80

Trp Arg Gln Pro Asn Glu Gly Ser Ser Ser Gln Glu Glu Glu Gly Pro
85 90 95

Ser Thr Ser Pro Asp Ala Glu Ser Leu Phe Arg Glu Ala Leu Ser Asn
100 105 110

Lys Val Asp Glu Leu Ala His Phe Leu Leu Arg Lys Tyr Arg Ala Lys
115 120 125

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

130 135 140

Lys Arg Cys Phe Pro Val Ile Phe Gly Lys Ala Ser Glu Ser Leu Lys
145 150 155 160
Met Ile Phe Gly Ile Asp Val Lys Glu Val Asp Pro Ala Ser Asn Thr
165 170 175
Tyr Thr Leu Val Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly
180 185 190
Asn Asn Gln Ile Phe Pro Lys Thr Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Gly
195 200 205

Thr Ile Ala Met Glu Gly Asp Ser Ala Ser Glu Glu Glu Ile Trp Glu
210 215 220
Glu Leu Gly Val Met Gly Val Tyr Asp Gly Arg Glu His Thr Val Tyr
225 230 235 240
Gly Glu Pro Arg Lys Leu Leu Thr Gln Asp Trp Val Gln Glu Asn Tyr
245 250 255
Leu Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asn Pro Ala Arg Tyr Glu Phe
260 265 270

Leu Trp Gly Pro Arg Ala Leu Ala Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu
275 280 285
Glu His Val Val Arg Val Asn Ala Arg Val Arg Ile Ala Tyr Pro Ser
290 295 300
Leu Arg Glu Ala Ala Leu Leu Glu Glu Glu Glu Gly Val
305 310 315

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 58
Gly Val Tyr Asp Gly Arg Glu His Thr Val
1 5 10

<210> 59

<211> 275

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr

50 55 60

Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
65 70 75 80

Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln
85 90 95

Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu

115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys
130 135 140

His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
165 170 175

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His

180 185 190

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln
210 215 220

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240
Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg

245 250 255
Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270
Arg Trp Glu
275
<210> 60
<211> 556
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 60
Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met
1 5 10 15
Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp
20 25 30

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

Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
100 105 110
Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
115 120 125
Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro
130 135 140
Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala

145 150 155 160

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

Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
225 230 235 240
Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala
245 250 255
Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
260 265 270
Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
275 280 285

Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
290 295 300
Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
305 310 315 320
Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
325 330 335
Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
340 345 350

Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
355 360 365
Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp
370 375 380
Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly
385 390 395 400

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
405 410 415

Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
420 425 430

Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly
435 440 445

Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
450 455 460

Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
465 470 475 480

Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
485 490 495

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
500 505 510

Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
515 520 525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp
530 535 540

Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
545 550 555

<210> 61

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 61

Ser Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 62

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 62

His Thr Thr Phe Pro Ser Ser Tyr Val Ser Tyr Tyr Gly Tyr

1 5 10

<210> 63

<211> 125

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 63

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Thr Thr Phe Pro Ser Ser Tyr Val Ser Tyr Tyr

100 105 110

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 64

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 64

Ser Tyr Ala Met Asn

1 5

<210> 65

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 65

Ala Ser Asn Phe Pro Ala Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 66

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic construct

<400> 66

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg Ala Ser Asn Phe Pro Ala Ser Tyr Val Ser Tyr Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 67

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 67

Asp Tyr Ile Met His

1 5

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 68

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 69

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 69

Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 70

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 70

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 71

Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 72

Leu Gln Leu Leu Glu Asp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 73

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 73

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 74

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 74

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser

20 25 30

Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu

85 90 95

Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 75

<211> 674

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 75

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

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

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

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr
225 230 235 240
Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr

245 250 255

Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp

260 265 270

Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr

275 280 285

Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu

290 295 300

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu

305 310 315 320

Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

370 375 380

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

385 390 395 400

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

405 410 415

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

420 425 430

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

435 440 445

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala

450 455 460

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

465 470 475 480

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

485 490 495

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
500 505 510
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
515 520 525
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
530 535 540

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro
545 550 555 560
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
565 570 575
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
580 585 590
Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
595 600 605

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
610 615 620
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
625 630 635 640
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
645 650 655
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
660 665 670

Ser Pro

<210> 76
<211> 674
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic construct
<400> 76
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

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

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
245 250 255
Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp

260 265 270

Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr

275 280 285

Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu

290 295 300

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu

305 310 315 320

Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

370 375 380

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

385 390 395 400

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

405 410 415

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

420 425 430

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

435 440 445

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala

450 455 460

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

465 470 475 480

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

485 490 495

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

500 505 510

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
515 520 525

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
530 535 540

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro
545 550 555 560

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
565 570 575

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
580 585 590

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
595 600 605

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
610 615 620

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
625 630 635 640

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
645 650 655

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
660 665 670

Ser Pro

<210> 77

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 77

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

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

```
Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225                 230                 235                 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                245                 250                 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
```

275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

325 330 335

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

340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

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

435 440 445

Pro

<210> 78

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 78

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser

20 25 30

Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Leu

85 90 95

Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg

115 120 125

Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 79

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 79

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Thr Thr Phe Pro Ser Ser Tyr Val Ser Tyr Tyr

100 105 110

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val

115 120 125

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

145 150 155 160

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys

195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr

210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 80

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 80

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg Ala Ser Asn Phe Pro Ala Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val
115 120 125

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
145 150 155 160

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230