(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0149051
(43) 공개일자 2021년12월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/725 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 14/74 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
C12N 5/0783 (2010.01) *C12N 9/22* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/7051 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2021-7031582
(22) 출원일자(국제) 2020년03월03일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년09월30일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2020/051807
(87) 국제공개번호 WO 2020/178738
국제공개일자 2020년09월10일
(30) 우선권주장
62/813,639 2019년03월04일 미국(US)

(71) 출원인
유니버시티 헬스 네트워크
캐나다 온타리오 엠5쥐 2씨4 토론토 엘리자베스 스트리트 190 알. 프레이저 엘리엇 빌딩-룸 1 에스-417
(72) 발명자
히라노, 나오토
캐나다 온타리오 엠5쥐 2씨4 토론토 엘리자베스 스트리트 190 알. 프레이저 엘리엇 빌딩-룸 1 에스-417
무라타, 켄지
캐나다 온타리오 엠5쥐 2씨4 토론토 엘리자베스 스트리트 190 알. 프레이저 엘리엇 빌딩-룸 1 에스-417
사소, 카요코
캐나다 온타리오 엠5쥐 2씨4 토론토 엘리자베스 스트리트 190 알. 프레이저 엘리엇 빌딩-룸 1 에스-417
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 108 항

(54) 발명의 명칭 **T 세포 수용체 및 이의 사용 방법**

(57) 요 약

본 개시내용은 NY-ESO-1 에피토프에 결합할 수 있는 재조합 T 세포 수용체 및 이를 암호화하는 핵산 분자에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 제2 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함하며, 여기서 제2 뉴클레오티드 서열 또는 제2 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드는 내인성 TCR의 발현을 억제한다. 본 개시내용의 다른 측면은 핵산 분자를 포함하는 벡터 및 재조합 TCR, 핵산 분자, 또는 벡터를 포함하는 세포에 관한 것이다. 본 개시내용의 또 다른 측면은 이를 사용하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 방법은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 것을 포함한다.

(52) CPC특허분류
C07K 14/70539 (2013.01)
C07K 16/2809 (2013.01)
C07K 16/30 (2013.01)
C12N 15/1138 (2013.01)
C12N 5/0636 (2013.01)
C12N 9/22 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C12N 2310/14 (2013.01)
C12N 2740/13043 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

핵산 분자로서, (i) 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")을 암호화하는 제1 뉴클레오티드 서열; 및 (ii) 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하되, 상기 제2 뉴클레오티드 서열 또는 제2 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드는 내인성 TCR의 발현을 억제하며,

상기 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하는 참조 TCR과 인간 NY-ESO-1에 대한 결합에 대해 교차 경쟁하고, 상기 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 2

핵산 분자로서, (i) 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")을 암호화하는 제1 뉴클레오티드 서열; 및 (ii) 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하되, 상기 제2 뉴클레오티드 서열 또는 제2 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드는 내인성 TCR의 발현을 억제하며,

상기 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하는 참조 TCR과 동일한 에피토프 또는 인간 NY-ESO-1의 중첩 에피토프에 결합하며, 상기 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 상기 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR이 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진 NY-ESO-1의 에피토프에 결합하는 것인, 핵산 분자.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 에피토프가 HLA 클래스 I 분자로 복합체화되는 것인, 핵산 분자.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, 또는 HLA-G 대립유전자인, 핵산 분자.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03 대립유전자인, 핵산 분자.

청구항 7

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03:02 대립유전자, HLA-C*03:03 대립유전자, HLA-C*03:04 대립유전자, HLA-C*03:05 대립유전자 및 HLA-C*03:06 대립유전자로부터 선택되는 것인, 핵산 분자.

청구항 8

제4항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03:03 대립유전자인, 핵산 분자.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR이 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며,

상기 알파 쇄는 알파 쇄 CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하고;

상기 베타 쇄는 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하며;

상기 알파 쇄 CDR3은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR3이 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR이 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 상기 알파 쇄는 알파 쇄 CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하고;

상기 베타 쇄는 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하며;

상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR3은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR3이 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 13

제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR1이 서열번호: 5에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 14

제9항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR1이 서열번호: 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 15

제9항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR2가 서열번호: 6에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 16

제9항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR2가 서열번호: 9에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 17

제9항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 가변 도메인이 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 가변 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 18

제9항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 가변 도메인이 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 가변 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 19

제9항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄가 불변 영역을 추가로 포함하며, 상기 불변 영역은 알파 쇄의 내인성 불변 영역과 상이한 것인, 핵산 분자.

청구항 20

제9항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄가 불변 영역을 추가로 포함하며,

상기 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서, 상기 알파 쇄 불변 영역이 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 22

제9항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄가 불변 영역을 추가로 포함하며, 상기 불변 영역은 베타 쇄의 내인성 불변 영역과 상이한 것인, 핵산 분자.

청구항 23

제9항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄가 불변 영역을 추가로 포함하며, 상기 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 상기 베타 쇄 불변 영역이 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 25

제9항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄가 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 26

제9항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄가 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 뉴클레오티드 서열이 내인성 TCR의 발현을 감소시키는 하나 이상의 siRNA인, 핵산 분자.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 하나 이상의 siRNA가 내인성 TCR의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적인, 핵산 분자.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 하나 이상의 siRNA가 서열번호: 53-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 뉴클레오티드 서열이 Cas9를 암호화하는 것인, 핵산 분자.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR이 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 둘 다를 포함하고; 상기 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 둘 다는 내인성 TCR의 상응하는 아미노산 서열에 비해 표적 서열 내에 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 핵산 분자.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 핵산 분자를 포함하는 벡터.

청구항 33

제32항에 있어서, 바이러스 벡터, 포유동물 벡터, 또는 박테리아 벡터인, 벡터.

청구항 34

제32항 또는 제33항에 있어서, 레트로바이러스 벡터인, 벡터.

청구항 35

제32항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 아데노바이러스 벡터, 렌티바이러스, 센다이 바이러스 벡터, 배큘로바이러스 벡터, 엡스타인 바(Epstein Barr) 바이러스 벡터, 파포바바이러스 벡터, 우두 바이러스 벡터, 단순 포진 바이러스 벡터, 하이브리드 벡터, 및 아데노 연관 바이러스(AAV) 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된 것인, 벡터.

청구항 36

제32항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 렌티바이러스인, 벡터.

청구항 37

제9항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 가변 도메인 및 제9항 내지 제31항 중 어느 한 항의 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 가변 도메인을 포함하는 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분.

청구항 38

참조 TCR과 인간 NY-ESO-1에 대한 결합에 대해 교차 경쟁하는, 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")으로서,

상기 참조 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하고, 상기 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 상기 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고;

상기 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 상기 알파 쇄는 불변 영역을 포함하고, 상기 베타 쇄는 불변 영역을 포함하며; 상기

(i) 상기 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 또는

(ii) 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2의 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 39

참조 TCR과 동일한 에피토프 또는 인간 NY-ESO-1의 중첩 에피토프에 결합하는 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")으로서,

상기 참조 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하고, 상기 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고;

상기 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 상기 알파 쇄는 불변 영역을 포함하고, 상기 베타 쇄

는 불변 영역을 포함하며;

(i) 상기 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 또는

(ii) 상기 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 40

제38항 또는 제39항에 있어서, 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진 NY-ESO-1의 에피토프에 결합하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 41

제39항 또는 제40항에 있어서, 상기 에피토프가 HLA 클래스 I 분자로 복합체화되는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, 또는 HLA-G 대립유전자인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03 대립유전자인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 44

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03:02 대립유전자, HLA-C*03:03 대립유전자, HLA-C*03:04 대립유전자, HLA-C*03:05 대립유전자 및 HLA-C*03:06 대립유전자로부터 선택되는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 45

제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03:03 대립유전자인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 46

제38항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄가 알파 쇄 CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하고;

상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄가 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하며;

상기 항-NY-ESO-1의 알파 쇄 CDR3은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR3이 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 48

제38항 내지 제45항 중 어느 한 한에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄가 알파 쇄CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하고;

상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄가 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포

함하며;

상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR3은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR3이 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR1이 서열번호: 5에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 51

제46항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR1이 서열번호: 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 52

제46항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR2가 서열번호: 6에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 53

제46항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR2가 서열번호: 9에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 54

제46항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 가변 도메인이 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 가변 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 55

제46항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 가변 도메인이 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 가변 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 56

제38항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 알파 쇄 불변 영역이 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 57

제38항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타 쇄 불변 영역이 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 58

제38항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄가 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 59

제38항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄가 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 것인, 항-NY-ESO-1 TCR.

청구항 60

제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 TCR로서, 상기 제1 항원-결합 도메인은 제37항의 TCR 또는 이의 항원-결합 부분 또는 제38항 내지 제59항 중 어느 한 항의 TCR 또는 이의 항원-결합 부분을 포함하는 것인, 이중특이적 TCR.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인이 단일 쇄 가변 단편("scFv")을 포함하는 것인, 이중특이적 TCR.

청구항 62

제60항 또는 제61항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인이 T 세포의 표면 상에서 발현된 단백질에 특이적으로 결합하는 것인, 이중특이적 TCR.

청구항 63

제60항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인이 CD3에 특이적으로 결합하는 것인, 이중특이적 TCR.

청구항 64

제60항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 항원-결합 도메인이 scFv를 포함하는 것인, 이중특이적 TCR.

청구항 65

제60항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인이 공유 결합에 의해 연결되거나 또는 회합되는 것인, 이중특이적 TCR.

청구항 66

제60항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인이 펩티드 결합에 의해 연결되는 것인, 이중특이적 TCR.

청구항 67

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 핵산 분자, 제32항 내지 제36항 중 어느 한 항의 벡터, 제37항의 TCR, 제38항 내지 제59항 중 어느 한 항의 재조합 TCR, 또는 제60항 내지 제66항 중 어느 한 항의 이중특이적 TCR을 포함하는 세포.

청구항 68

제67항에 있어서, CD3을 추가로 발현하는, 세포.

청구항 69

제67항 또는 제68항에 있어서, T 세포, 자연 살해(NK) 세포, 자연 살해 T(NKT) 세포, 또는 ILC 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는, 세포.

청구항 70

제67항 내지 제69항 중 어느 한 항의 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 암이 흑색종, 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부의 암,

위암, 고환암, 자궁암, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 음문 암종, 호지킨병, 비호지킨 림프종(NHL), 원발성 종격 거대 B 세포 림프종(PMBC), 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 여포성 림프종(FL), 형질전환된 여포성 림프종, 비장 변연부 림프종(SMZL), 식도암, 소장암, 내분비계의 암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 만성 또는 급성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병(ALL)(비 T 세포 ALL 포함), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소아의 고형 종양, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 요관의 암, 신우 암종, 중추신경계(CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관형성, 척추 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 유표피암, 편평세포암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유도된 것들을 포함한 환경적으로 유도된 암, 다른 B 세포 악성종양, 및 상기 암의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 72

제70항 또는 제71항에 있어서, 상기 암이 재발성 또는 난치성인, 방법.

청구항 73

제70항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 국소 진행성인, 방법.

청구항 74

제70항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 진행성인, 방법.

청구항 75

제70항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 전이성인, 방법.

청구항 76

제70항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 대상체로부터 수득되는 것인, 방법.

청구항 77

제70항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 대상체 이외의 공여자로부터 수득되는 것인, 방법.

청구항 78

제70항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 세포의 투여 전에 예비조건화되는 것인, 방법.

청구항 79

제68항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 예비조건화가 화학요법, 사이토카인, 단백질, 소분자, 또는 이의 임의의 조합을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 것인, 방법.

청구항 80

제78항 또는 제79항에 있어서, 상기 예비조건화가 인터류킨을 투여하는 것을 포함하는 것인, 방법.

청구항 81

제78항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 예비조건화가 IL-2, , IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21, 또는 이의 임의의 조합을 투여하는 것을 포함하는 것인, 방법.

청구항 82

제78항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 예비조건화가 사이클로포스파미드, 플루다라빈, 비타민 C, AKT 억제제, ATRA, 라파마이신, 또는 이의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 예비조건화제를 투여하는 것을 포함하는 것인, 방법.

청구항 83

제78항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 예비조건화가 사이클로포스파미드, 플루다라빈, 또는 둘 다

를 투여하는 것을 포함하는 것인, 방법.

청구항 84

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항의 핵산 분자 또는 제32항 내지 제36항 중 어느 한 항의 벡터로 T 세포 요법을 필요로 하는 대상체로부터 수집된 세포를 형질도입하는 단계를 포함하는, 항원-표적화 세포를 조작하는 방법.

청구항 85

제84항에 있어서, 상기 항원-표적화 세포가 CD3을 추가로 발현하는 것인, 방법.

청구항 86

제84항 또는 제85항에 있어서, 상기 세포가 T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포인, 방법.

청구항 87

펩티드에 복합체화된 HLA 클래스 I 분자로서, 상기 HLA 클래스 I 분자는 α1 도메인, α2 도메인, α3 도메인 및 β2m을 포함하고, 상기 펩티드는 서열번호: 14에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진 것인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 88

제87항에 있어서, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, 또는 HLA-G인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 89

제87항 또는 제88항에 있어서, HLA-C인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 90

제87항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, HLA-C*03 대립유전자인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 91

제87항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03:02 대립유전자, HLA-C*03:03 대립유전자, HLA-C*03:04 대립유전자, HLA-C*03:05 대립유전자 및 HLA-C*03:06 대립유전자로부터 선택되는 것인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 92

제87항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03:03 대립유전자인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 93

제87항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 HLA-C*03:04 대립유전자인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 94

제87항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 단량체인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 95

제87항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 이량체인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 96

제87항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 삼량체인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 97

제87항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 사량체인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 98

제87항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 오량체인, HLA 클래스 I 분자.

청구항 99

제87항 내지 제98항 중 어느 한 항의 HLA 클래스 I 분자를 포함하는, 항원 제시 세포(APC).

청구항 100

제99항에 있어서, 상기 HLA 클래스 I 분자가 APC의 표면 상에서 발현되는 것인, APC.

청구항 101

인간 대상체로부터 수득된 T 세포의 표적 집단을 풍부화하는 방법으로서, 제87항 내지 제98항 중 어느 한 항의 HLA 클래스 I 분자 또는 제99항 또는 제100항의 APC를 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함하며, 상기 접촉시키는 단계 이후, 상기 풍부화된 T 세포 집단은 접촉시키는 단계 이전에 HLA 클래스 I 분자에 결합할 수 있는 T 세포의 수에 비해 HLA 클래스 I 분자에 결합할 수 있는 더 많은 T 세포의 수를 포함하는 것인, 방법.

청구항 102

인간 대상체로부터 수득된 T 세포의 표적 집단을 풍부화하는 방법으로서, 펩티드를 시험관 내에서 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함하며, 상기 펩티드는 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어지며, 상기 접촉시키는 단계 이후, 상기 풍부화된 T 세포 집단은 상기 접촉시키는 단계 전에 종양 세포를 표적화할 수 있는 T 세포의 수에 비해 종양 세포를 표적화할 수 있는 더 많은 T 세포의 수를 포함하는 것인, 방법.

청구항 103

제101항 또는 제102항에 있어서, 상기 인간 대상체로부터 수득된 T 세포가 종양 침윤 림프구(TIL)인, 방법.

청구항 104

제101항 또는 제102항의 풍부화된 T 세포를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 105

서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 펩티드를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 대상체에서 암 세포의 세포독성 T 세포-매개 표적화를 향상시키는 방법.

청구항 106

서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 펩티드를 포함하는 암 백신.

청구항 107

종양 세포를 표적화할 수 있는 T 세포를 선택하는 방법으로서, 펩티드를 시험관 내에서 단리된 T 세포의 집단과 접촉시키는 단계를 포함하며, 상기 펩티드는 서열번호: 11에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진 것인, 방법.

청구항 108

제107항에 있어서, 상기 T 세포가 종양 침윤 림프구(TIL)인, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 이 PCT 출원은 2019년 3월 4일 출원된 미국 가출원 번호 제62/813,639호의 우선권 이익을 주장하며, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] EFS-WEB을 통해 전자적으로 제출된 서열 목록에 대한 참조

[0004] 전자적으로 제출된 서열 목록(파일명: 4285_001PC01_Seqlisting_ST25.txt, 크기: 23,578 바이트; 및 생성 날짜: 2020년 3월 3일)의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0005] 개시내용의 분야

[0006] 본 개시내용은 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체("TCR") 및 이의 용도를 제공한다.

배 경 기 술

[0007] 면역요법은 암을 포함한 다양한 질환과의 전쟁에서 중요한 도구로 떠올랐다. T 세포 요법은 면역요법 개발의 최전선에 있으며, 항종양 T 세포의 입양 전달은 암 환자에서 임상 반응을 유도하는 것으로 나타났다. 많은 T 세포 요법이 돌연변이된 종양 항원을 표적으로 하지만, 대부분의 신생항원은 공유되지 않고 각 환자에게 고유하다.

[0008] 잠재적인 비돌연변이 항원은 돌연변이 항원보다 몇 배나 되는 규모로 수적으로 우세하다. 공유 항원에서 유래된 T 세포 에피토프의 해명은 더 큰 암 환자 코호트가 용이하게 이용가능한 효율적이고 안전한 입양 T 세포 요법의 강력한 개발을 촉진할 수 있다. 그러나, 비돌연변이 항원의 순전한 수 및 HLA 유전자의 높은 다형성은 비돌연변이 항원에 대한 항종양 T 세포 반응의 특이성에 대한 포괄적 분석을 방해하였을 수 있다.

[0009] 본 개시내용은 비돌연변이 항원 NY-ESO-1에 대한 신규 에피토프 및 상기 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있는 TCR을 제공한다. 이러한 신규 에피토프는 특정 HLA 대립유전자와 회합된다. 이러한 종양-반응성 HLA-제한 NY-ESO-1 TCR의 사용은 특히 면역종양학에서 항-NY-ESO-1 TCR 유전자 요법의 적용가능성을 넓히는 것을 의미한다.

발명의 내용

[0010] 개시내용의 요약

[0011] 본 개시내용의 특정 측면은 (i) 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")을 암호화하는 제1 뉴클레오티드 서열; 및 (ii) 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자에 관한 것이며, 여기서 제2 뉴클레오티드 서열 또는 제2 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드는 내인성 TCR의 발현을 억제하고, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하는 참조 TCR과 인간 NY-ESO-1에 대한 결합에 대해 교차 경쟁하며, 여기서 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0012] 본 개시내용의 특정 측면은 (i) 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")을 암호화하는 제1 뉴클레오티드 서열; 및 (ii) 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자에 관한 것이며, 여기서 제2 뉴클레오티드 서열 또는 제2 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드는 내인성 TCR의 발현을 억제하고, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하는 참조 TCR과 동일한 에피토프 또는 인간 NY-ESO-1의 중첩 에피토프에 결합하며, 여기서 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0013] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진 NY-ESO-1의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03 대립유전자이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03:02 대립유전자, HLA-C*03:03 대립유전자, HLA-C*03:04 대립유전자, HLA-C*03:05 대립유전자 및 HLA-C*03:06 대립유전자로부터 선택된다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03:03 대립유전자이다.

[0014] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 알파 쇄 CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하고; 여기서 베타 쇄는 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하며; 여기서 알파 쇄 CDR3은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR3은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0015] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 알파 쇄 CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 영역을 포함하고; 여기서 베타 쇄는 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및

베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하며; 여기서 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR3은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR3은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0016] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR1은 서열번호: 5에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR1은 서열번호: 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR2는 서열번호: 6에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR2는 서열번호: 9에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0017] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 가변 도메인은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 가변 도메인의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 가변 도메인은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 가변 도메인의 아미노산 서열을 포함한다.

[0018] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄는 불변 영역을 추가로 포함하며, 여기서 불변 영역은 알파 쇄의 내인성 불변 영역과 상이하다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄는 불변 영역을 추가로 포함하며, 여기서 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄는 불변 영역을 추가로 포함하며, 여기서 불변 영역은 베타 쇄의 내인성 불변 영역과 상이하다.

[0019] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄는 불변 영역을 추가로 포함하며, 여기서 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0020] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 뉴클레오티드 서열은 내인성 TCR의 발현을 감소시키는 하나 이상의 siRNA이다.

[0021] 일부 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 내인성 TCR의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 서열번호: 53-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0022] 일부 구현예에서, 제2 뉴클레오티드 서열은 Cas9를 암호화한다.

[0023] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 둘 다를 포함하며; 여기서 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 둘 다는 내인성 TCR의 상응하는 아미노산 서열에 비해 표적 서열 내에 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0024] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 핵산 분자를 포함하는 벡터에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 벡터는 바이러스 벡터, 포유동물 벡터, 또는 박테리아 벡터이다. 일부 구현예에서, 벡터는 레트로바이러스 벡터이다. 일부 구현예에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터, 렌티바이러스, 센다이 바이러스 벡터, 배큘로바이러스 벡터, 엡스타인 바 바이러스 벡터, 파포바바이러스 벡터, 우두 바이러스 벡터, 단순 포진 바이러스 벡터, 하이브리드 벡터, 및 아데노 연관 바이러스(AAV) 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 벡터는 렌티바이러스이다.

[0025] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 가변 도메인 및 본원에 개시된 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 가변 도메인을 포함하는 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")은 참조 TCR과 인간 NY-ESO-1에 대한 결합에 대해 교차 경쟁하며; 여기서 참조 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 베타 쇄

는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하며; 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 불변 영역을 포함하고, 여기서 베타 쇄는 불변 영역을 포함하며; 여기서 (i) 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 (ii) 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2의 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0026] 본 개시내용의 특정 측면은 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")에 관한 것으로, 이는 참조 TCR과 동일한 에피토프 또는 인간 NY-ESO-1의 중첩 에피토프에 결합하며; 여기서 참조 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하며; 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 불변 영역을 포함하고, 여기서 베타 쇄는 불변 영역을 포함하며; 여기서 (i) 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 (ii) 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진 NY-ESO-1의 에피토프에 결합한다.

[0027] 일부 구현예에서, 에피토프는 HLA 클래스 I 분자로 복합체화된다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, 또는 HLA-G 대립유전자이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03 대립유전자이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03:02 대립유전자, HLA-C*03:03 대립유전자, HLA-C*03:04 대립유전자, HLA-C*03:05 대립유전자 및 HLA-C*03:06 대립유전자로부터 선택된다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03:03 대립유전자이다.

[0028] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄는 알파 쇄 CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하고; 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄는 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3를 포함하는 가변 도메인을 포함하며; 여기서 항-NY-ESO-1의 알파 쇄 CDR3은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR3은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0029] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄는 알파 쇄CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하고; 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄는 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하며; 여기서 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR3는 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR3은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0030] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR1은 서열번호: 5에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR1은 서열번호: 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR2는 서열번호: 6에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR2는 서열번호: 9에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0031] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 가변 도메인은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 가변 도메인의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 가변 도메인은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 가변 도메인의 아미노산 서열을 포함한다.

[0032] 일부 구현예에서, 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0033] 일부 구현예에서, 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 불변 영역의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0034] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일

부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0035] 본 개시내용의 특정 측면은 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 TCR에 관한 것이며, 여기서 제1 항원-결합 도메인은 본원에 개시된 TCR 또는 이의 항원-결합 부분 또는 본원에 개시된 TCR 또는 이의 항원-결합 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 단일 쇄 가변 단편("scFv")을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 항원-결합 도메인은 T 세포의 표면 상에서 발현된 단백질에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 제2 항원-결합 도메인은 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 제2 항원-결합 도메인은 scFv를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 공유 결합에 의해 연결되거나 또는 회합된다. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 펩티드 결합에 의해 연결된다.

[0036] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 핵산 분자, 본원에 개시된 벡터, 본원에 개시된 TCR, 본원에 개시된 재조합 TCR, 또는 본원에 개시된 이중특이적 TCR을 포함하는 세포에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 세포는 CD3을 추가로 발현한다. 일부 구현예에서, 세포는 T 세포, 자연 살해(NK) 세포, 자연 살해 T(NKT) 세포, 또는 ILC 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0037] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 암은 흑색종, 골암, 췌장암, 피부암, 두경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부의 암, 위암, 고환암, 자궁암, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 음문 암종, 호지킨병, 비호지킨 림프종(NHL), 원발성 종격 거대 B 세포 림프종(PMBC), 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 여포성 림프종(FL), 형질전환된 여포성 림프종, 비장 변연부 림프종(SMZL), 식도암, 소장암, 내분비계의 암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 만성 또는 급성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병(ALL)(비 T 세포 ALL 포함), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소아의 고형 종양, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 요관의 암, 신우 암종, 중추신경계(CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관형성, 척추 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 유표피암, 편평세포암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유도된 것들을 포함한 환경적으로 유도된 암, 다른 B 세포 악성종양, 및 상기 암의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0038] 일부 구현예에서, 암은 재발성 또는 난치성이다. 일부 구현예에서, 암은 국소 진행성이다. 일부 구현예에서, 암은 진행성이다. 일부 구현예에서, 암은 전이성이다.

[0039] 일부 구현예에서, 세포는 대상체로부터 수득된다. 일부 구현예에서, 세포는 대상체 이외의 공여자로부터 수득된다. 일부 구현예에서, 대상체는 세포를 투여하기 전에 예비조건화된다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 화학요법, 사이토카인, 단백질, 소분자, 또는 이의 임의의 조합을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 인터류킨을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 IL-2, , IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21, 또는 이의 임의의 조합을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 사이클로포스파미드, 플루다라빈, 비타민 C, AKT 억제제, ATRA, 라파마이신, 또는 이의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 예비조건화제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 사이클로포스파미드, 플루다라빈, 또는 둘 다를 투여하는 것을 포함한다.

[0040] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 핵산 또는 본원에 개시된 벡터로 T 세포 요법을 필요로 하는 대상체로부터 수집된 세포를 형질도입하는 단계를 포함하는, 항원-표적화 세포를 조작하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 항원-표적화 세포는 CD3을 추가로 발현한다. 일부 구현예에서, 세포는 T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포이다.

[0041] 본 개시내용의 특정 측면은 펩티드에 복합체화된 HLA 클래스 I 분자에 관한 것이며, 여기서 HLA 클래스 I 분자는 α1 도메인, α2 도메인, α3 도메인 및 β2m을 포함하고, 여기서 펩티드는 서열번호: 14에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진다.

[0042] 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, 또는 HLA-G이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C *03 대립유전자이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03:02 대립유전자, HLA-C*03:03 대립유전자, HLA-C*03:04 대립유전자, HLA-C*03:05 대립유전자 및 HLA-C*03:06 대립유전자로부터 선택된다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03:03 대립유전자이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-C*03:04 대립유전자이다.

[0043] 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 단량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 이량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 삼량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 사량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 오량체이다.

[0044] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 HLA 클래스 I 분자를 포함하는, 항원 제시 세포(APC)에 관한 것이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 APC의 표면 상에서 발현된다.

[0045] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 HLA 클래스 I 분자 또는 본원에 개시된 APC를 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함하는, 인간 대상체로부터 수득된 T 세포의 표적 집단을 풍부화하는 방법에 관한 것이며, 여기서 접촉 후, 풍부화된 T 세포 집단은 접촉 전에 HLA 클래스 I 분자에 결합할 수 있는 T 세포에 비해 HLA 클래스 I 분자에 결합할 수 있는 더 많은 T 세포의 수를 포함한다.

[0046] 본 개시내용의 특정 측면은 펩티드를 시험관 내에서 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함하는, 인간 대상체로부터 수득된 T 세포의 표적 집단을 풍부화하는 방법에 관한 것이며, 여기서 펩티드는 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어지고, 접촉 후, 풍부화된 T 세포 집단은 접촉 전에 종양 세포를 표적화할 수 있는 T 세포의 수에 비해 종양 세포를 표적화할 수 있는 더 많은 T 세포의 수를 포함한다.

[0047] 일부 구현예에서, 인간 대상체로부터 수득된 T 세포는 종양 침윤 림프구(TIL)이다.

[0048] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 풍부화된 T 세포 집단을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 종양의 치료를 필요로 하는 대상체에서 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0049] 본 개시내용의 특정 측면은 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 펩티드를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 대상체에서 암 세포의 세포독성 T 세포-매개 표적화를 향상시키는 방법에 관한 것이다.

[0050] 본 개시내용의 특정 측면은 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 펩티드를 포함하는 암 백신에 관한 것이다.

[0051] 본 개시내용의 특정 측면은 펩티드를 시험관 내에서 단리된 T 세포 집단과 접촉시키는 단계를 포함하는, 종양 세포를 표적화할 수 있는 T 세포를 선택하는 방법에 관한 것이며, 여기서 펩티드는 서열번호: 11에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 구현예에서, T 세포는 종양 침윤 림프구(TIL)이다.

도면의 간단한 설명

[0052] 도 1은 중첩 펩티드로 펄스된 인공 APC로 자극 후 흑색종 TIL에서C*03:04/NY-ESO-1 T 세포의 수를 예시하는 막대 그래프이다. TIL은 IFN-γ ELISPOT 분석에서 응답자 세포로 사용하였다. NY-ESO-1의 전체 단백질을 다루기 위해 중첩 펩티드로 펄스된 C*03:04-인공 APC를 자극자 세포로 사용하였다. NY-ESO-1-유래 중첩 펩티드로 펄스된 C*03:04-인공 APC로 자극될 때, TIL은 공유 서열 $_{91}$YLAMPFATPM$_{100}$을 갖는 2 개의 인접한 펩티드에 대해 양성 반응을 나타내었다(또한 표 5 참조).

도 2a-2c는 흑색종 TIL의 C*03:04/NY-ESO-1$_{92-100}$ 다량체 염색의 그래프 표현이다. 도 2a는 C*03:04/NY-ESO-1$_{92-100}$ 다량체로 TIL의 염색을 보여준다. C*03:04/MAGE-A1$_{230-238}$(도 2b) 및 C*03:04/교환되지 않음(도 2c) 다량체를 음성 대조군으로 사용하였다. $CD8^+$ T 세포에서 다량체$^+$ 세포의 백분율이 제시되어 있다.

도 3은 C*03:04/NY-ESO-1$_{92-100}$ 다량체-양성 흑색종 TIL의 기능적 평가를 예시하는 막대 그래프이다. C*03:04/NY-ESO-1$_{92-100}$-특이적 방식으로 TIL에 의한 IFN-γ 생산. TIL을 IFN-γ ELISPOT 분석에서 응답자 세포로 이용하였다. 나타낸 펩티드로 펄스된 C*03:04-인공 APC를 자극자 세포로 사용하였다. MAGE-A1$_{230-238}$ 펩티드를 대조군으로 이용하였다. 실험은 삼중으로 수행하였고, 오차 막대는 표준편차(SD)를 나타낸다. ***$P < 0.001$.

도 4a-4i는 동족 다량체를 갖는 C*03:04/NY-ESO-1$_{92-100}$ TCR 유전자로 형질도입된 Jurkat 76/CD8 세포의 양성 염색의 그래프 표현이다. C*03:04/NY-ESO-1$_{92-100}$ TCR(도 4b, 4e, 및 4h)로 형질도입된 Jurkat 76/CD8 세포를 C*03:04/NY-ESO-1$_{92-100}$ 다량체(도 4b)로 염색하였다. TCR로 형질도입되지 않은 Jurkat 76/CD8 세포(도 4a, 4d, 및 4g) 뿐만 아니라, C*03:04/HIV gag$_{164-172}$ 다량체(도 4d, 4e 및 4f), C*07:02/MAGE-A1$_{289-297}$ TCR(클론 CL2; 도

4c, 4f, 및 4i) 및 교환되지 않은 다량체(도 4g, 4h 및 4i)를 대조군으로 이용하였다. 다량체$^{+}$ CD8^{+} 세포의 백분율이 제시되어 있다.

도 5a-5d는 동족 다량체를 갖는 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR 유전자(도 5b 및 5d)로 형질도입된 인간 1차 T 세포의 양성 염색의 그래프 표현이다. C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR로 형질도입된 1차 T 세포를 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100}(도 5b) 또는 C*03:04/HIV $gag_{164-172}$ 대조군 다량체(도 5d)로 염색하였다. 형질도입되지 않은 1차 T 세포를 음성 대조군으로 이용하였다(도 5a 및 5c). 다량체$^{+}$ CD8^{+} T 세포의 백분율이 제시되어 있다.

도 6은 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR 유전자로 형질도입된 인간 1차 T 세포가 표적 클래스 I 분자에 의해 제시된 동족 펩티드와 강하게 반응함을 예시하는 막대 그래프이다. C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR 유전자로 형질도입된 1차 T 세포 또는 형질도입되지 않은 1차 T 세포(x-축)을 IFN-γ ELISPOT 분석에서 응답자 세포로 이용하였다. HLA-C*03:04-형질도입된 T2 세포(T2-C*03:04)를 생성하였다. NY-ESO-1_{92-100} 또는 HIV $gag_{164-172}$ 펩티드(대조군)으로 펄스된 T2 또는 T2-C*03:04 세포를 자극자 세포로 이용하였다. 실험은 삼중으로 수행하였고, 오차 막대는 SD를 나타낸다. ***$P < 0.001$.

도 7a 및 7b는 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR 유전자로 형질도입된 1차 T 세포가 종양 세포를 인식함을 예시하는 그래프 표현(도 7a) 및 그것의 범례(도 7b)이다. C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR 유전자로 형질도입된 1차 T 세포 또는 형질도입되지 않은 1차 T 세포를 IFN-γ ELISPOT 분석에서 응답자 세포로 이용하였다. 형질도입이 되지 않았거나 또는 HLA-C*03:04 또는 NY-ESO-1로 형질도입된 A375, SK-MEL-37, LM-MEL-53 및 SK-MEL-21 세포를, 도 7b(도 7a의 범례)에 표시된 바와 같이, 48시간 동안 100 ng/ml IFN-γ로 처리한 후, 자극자 세포로 이용하였다. 실험은 삼중으로 수행하였고, 오차 막대는 SD를 나타낸다.*$P < 0.05$, **$P < 0.01$, ***$P < 0.001$.

도 8a-8e는 내인성 또는 형질도입된 전장 유전자로부터 유래된 NY-ESO-1의 발현을 그래프로 표현한다. 표적 세포에서 내인성 또는 형질도입된 전장 유전자로부터 유래된 NY-ESO-1의 발현을 항-NY-ESO-1 mAb(열린 곡선) 및 이소형 대조군(채워진 곡선)으로 염색 후 세포내 유세포 분석을 통해 분석하였다.

도 9a-9d는 ΔNGFR로 태그된 전장 HLA-C*03:04 유전자로 형질도입된 표적 세포에서 ΔNGFR의 발현을 그래프로 표현한다(도 9b 및 9d). ΔNGFR로 태그된 전장 HLA-C*03:04 유전자로 형질도입된 표적 세포에서 ΔNGFR의 표면 발현을 항-NGFR mAb(열린 곡선) 및 이소형 대조군(채워진 곡선)으로 염색 후 유세포 분석에 의해 분석하였다. ΔNGFR 단독을 대조군으로 사용하였다(도 9a 및 9c).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0053] 본 개시내용은 NY-ESO-1 상의 에피토프에 특이적으로 결합하는 TCR 또는 이의 항원 결합 부분, 이를 암호화하는 핵산 분자, 및 TCR 또는 핵산 분자를 포함하는 세포에 관한 것이다. 본 개시내용의 일부 측면은 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 측면은 NY-ESO-1의 에피토프를 포함하는 펩티드에 복합체화된 HLA 클래스 I 분자에 관한 것이다.

[0054] **I. 용어**

[0055] 본 개시내용을 보다 용이하게 이해할 수 있도록 하기 위해, 특정 용어가 먼저 정의된다. 본 출원에 사용된 바와 같이, 본원에 달리 명시적으로 제공된 경우를 제외하고, 하기 용어 각각은 아래에 제시된 의미를 가질 것이다. 추가의 정의는 출원 전반에 제시되어 있다.

[0056] 용어 단수형 독립체는 해당 독립체의 하나 이상을 지칭하며; 예를 들어, "뉴클레오티드 서열"은 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 나타내는 것으로 이해됨을 유의하여야 한다. 이와 같이, 용어 단수형, "하나 이상," 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다.

[0057] 또한, 본원에서 사용된 경우 "및/또는"은 다른 명시된 특징 또는 구성요소가 있거나 또는 없이 2 개의 명시된 특징 또는 구성요소 각각의 특정 개시내용으로 취해져야 한다. 따라서, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용된 바와 같은 용어 "및/또는"은 "A 및 B," "A 또는 B," "A"(단독), 및 "B"(단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용된 바와 같은 용어 "및/또는"은 다음 측면 각각을 포함하는 것으로 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및

C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).

[0058] 용어 "약"은 대략적으로, 거의, 정도, 또는 부근의를 의미하기 위해 본원에서 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 함께 사용되는 경우, 제시된 수치 값 위아래 경계를 확장함으로써 해당 범위를 수식한다. 일반적으로, 용어 "약"은 위 또는 아래로(더 높거나 또는 더 낮은) 10 퍼센트의 변동에 의해 명시된 값 위아래의 수치 값을 수식하기 위해 본원에서 사용된다.

[0059] 측면이 언어 "포함하는"으로 본원에 기재되어 있는 곳마다, 달리 "로 이루어진" 및/또는 "로 본질적으로 이루어진"과 관련하여 기재된 유사한 측면이 또한 제공됨이 이해된다.

[0060] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 개시내용이 관련된 기술 분야의 숙련자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 the Oxford Dictionary Of Biochemistry and Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press는 본 개시내용에 사용되는 많은 용어의 일반 사전을 숙련자에게 제공한다.

[0061] 단위, 접두사, 및 기호는 국제단위계(Systeme International de Unites)(SI) 채택 형식으로 표시된다. 숫자 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함한다. 달리 나타내지 않는 한, 뉴클레오티드 서열은 5'에서 3' 방향으로 왼쪽에서 오른쪽으로 기재되어 있다. 아미노산 서열은 아미노에서 카복시 방향으로 왼쪽으로 오른쪽으로 기재되어 있다. 본원에 제공된 표제는 개시내용의 다양한 측면을 제한하지 않으며, 명세서 전체를 참조할 수 있다. 따라서, 바로 아래에 정의된 용어는 전부 명세서를 참조하여 보다 완전히 정의된다.

[0062] "투여하는"은 당업자에게 알려진 임의의 다양한 방법 및 전달 시스템을 사용하여, 대상체에게 제제를 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 본원에 개시된 제형에 대한 예시적인 투여 경로는 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 정맥내, 근육내, 피하, 복강내, 척추 또는 다른 비경구 투여 경로를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 어구 "비경구 투여"는 일반적으로 주입에 의한 장내 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하며, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 기관경유, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척추내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기천공을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 제형은 비경구가 아닌 경로, 예를 들어, 경구를 통해 투여된다. 다른 비경구가 아닌 경로는 국소, 표피 또는 점막 투여 경로, 예를 들어, 비강내, 질, 직장, 설하 또는 국소 경로를 포함한다. 투여는 또한 예를 들어, 1 회, 여러 번, 및/또는 하나 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0063] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "T 세포 수용체"(TCR)는 표적 항원과 특이적으로 상호작용할 수 있는 이종 세포-표면 수용체를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, "TCR"은 자연 발생 및 비-자연 발생 TCR; 전장 TCR 및 이의 항원 결합 부분; 키메라 TCR; TCR 융합 작제물; 및 합성 TCR을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 인간에서, TCR은 T 세포의 표면 상에서 발현되고, 이들은 T 세포 인식 및 항원 제시 세포의 표적화를 담당한다. 항원 제시 세포(APC)는 주요 조직접합성 복합체(MHC; 또한 HLA 분자, 예를 들어, HLA 클래스 1 분자로 복합체화된 것으로 본원에 지칭됨)로 복합체화된 외래 단백질(항원)의 단편을 나타낸다. TCR은 항원:HLA 복합체를 인식하고 이에 결합하며 CD3(T 세포에 의해 발현됨)을 동원하여, TCR를 활성화시킨다. 활성화된 TCR은 EPC의 파괴를 포함한 다운스트림 신호전달 및 면역 반응을 개시한다.

[0064] 일반적으로, TCR은 디술피드 결합에 의해 상호연결된 2 개의 쇄인 알파 쇄 및 베타 쇄(또는 덜 통상적으로 감마 쇄 및 델타 쇄)를 포함할 수 있다. 각 쇄는 가변 도메인(알파 쇄 가변 도메인 및 베타 쇄 가변 도메인) 및 불변 영역(알파 쇄 불변 영역 및 베타 쇄 불변 영역)을 포함한다. 가변 도메인은 세포막의 원위부에 위치하고, 가변 도메인은 항원과 상호작용한다. 불변 영역은 세포막의 근위부에 위치한다. TCR은 막횡단 영역 및 짧은 세포질 꼬리를 추가로 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "불변 영역"은 존재하는 경우 막횡단 영역 및 세포질 꼬리, 뿐만 아니라 전통적인 "불변 영역"을 포괄한다.

[0065] 가변 도메인은 프레임워크 영역(FR)이라고 불리는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는 상보성 결정 영역(CDR)이라고 불리는 초가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각 알파 쇄 가변 도메인 및 베타 쇄 가변 도메인은 3 개의 CDR 및 4 개의 FR을 포함한다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 각 가변 도메인은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 각 쇄 상의 3 개의 모든 CDR이 항원 결합에 수반되지만, CDR3은 1차 항원 결합 영역인 것으로 여겨진다. CDR1은 또한 항원과 상호작용하는 반면, CD2는 주로 HLA 복합체를 인식하는 것으로 여겨진다.

[0066] 명시적으로 언급되지 않은 경우, 및 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 용어 "TCR"은 또한 본원에 개시된 임의의 TCR의 항원-결합 단편 또는 항원-결합 부분을 포함하고, 1가 및 2가 단편 또는 부분, 및 단일 쇄 TCR을 포함한다. 용어 "TCR"은 T 세포의 표면에 결합된 자연 발생 TCR로 제한되지 않는다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "TCR"은 T 세포 이외의 세포(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이, 자연적으로 발현하거나 또는 CD3을 발현하도록 변형된 세포)의 표면 상에서 발현된 본원에 기재된 TCR, 또는 세포막이 없는 본원에 기재된 TCR(예를 들어, 단리된 TCR 또는 가용성 TCR)을 추가로 지칭한다.

[0067] "항원 결합 분자," "TCR의 부분," 또는 "TCR 단편"은 전체보다 적은 TCR의 임의의 부분을 지칭한다. 항원 결합 분자는 항원성 상보성 결정 영역(CDR)을 포함할 수 있다.

[0068] "항원"은 면역 반응을 유발하거나 또는 TCR에 의해 결합될 수 있는 임의의 분자, 예를 들어, 펩티드를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같은 "에피토프"는 면역 반응을 유발하거나 또는 TCR에 의해 결합될 수 있는 폴리펩티드의 일부를 지칭한다. 면역 반응은 항체 생산, 또는 특정 면역학적으로 적격 세포의 활성화, 또는 둘 다를 수반할 수 있다. 당업자는 사실상 모든 단백질 또는 펩티드를 포함한 임의의 거대분자가 항원으로 역할을 할 수 있음을 용이하게 이해할 것이다. 항원 및/또는 에피토프는 내인성으로 발현될 수 있거나, 즉, 게놈 DNA에 의해 발현될 수 있거나, 또는 재조합적으로 발현될 수 있다. 항원 및/또는 에피토프는 암 세포와 같은 특정 조직에 특이적일 수 있거나, 또는 광범위하게 발현될 수 있다. 또한, 더 큰 분자의 단편은 항원으로 작용할 수 있다. 일 구현예에서, 항원은 종양 항원이다. 에피토프는 더 긴 폴리펩티드(예를 들어, 단백질)에 존재할 수 있거나, 또는 에피토프는 더 긴 폴리펩티드의 단편으로 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 에피토프는 주요 조직접합성 복합체(MHC; 또한 본원에서 HLA 분자, 예를 들어, HLA 클래스 1 분자로 복합체화된 것으로 지칭됨)로 복합체화된다.

[0069] 본원에 사용된 용어 "NY-ESO-1", "뉴욕 식도 편평 세포 암종 1," "암-고환 항원 1B", 또는 "CTAG1B"는 수많은 암 유형에서 발현되는 종양 항원을 가리킨다. NY-ESO-1은 암-고환 항원 계열의 구성원으로, 건강한 성인 체세포에서의 발현 없이 대체로 고환 생식 세포 및 태반 영양막에 국한되는 발현을 특징으로 한다. NY-ESO-1 발현은 배아 발달 단계 동안 검출될 수 있고, NY-ESO-1 발현은 정조 세포 및 1차 정자세포에 유지된다. 여성의 경우, NY-ESO-1 발현이 여성의 난원세포에서 빠르게 감소한다. NY-ESO-1 RNA가 난소 및 자궁내막 조직에서 낮은 수치로 검출된 바 있으나; NY-ESO-1 단백질은 상기 조직에서 발견된 바 없다. NY-ESO-1 단백질(서열번호: 52; 표 1)은 아미노산이 180개인 18-kDa 단백질이다. 예를 들면, Thomas 등, *Front. Immunol. 9*:947 (2018) 참조.

표 1

NY-ESO-1 아미노산 서열

[0070]

서열번호:	NY-ESO-1 아미노산 서열
52	MQAEGRGTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGGRGPRGAGAARAS GPGGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAELARRS LAQDAPPLPVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLSISSCLQQLSLLMWI TQCFLPVFLAQPPSGQRR

[0071] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "HLA"는 인간 백혈구 항원을 지칭한다. HLA 유전자는 인간에서 주요 조직접합성 복합체(MHC) 단백질을 암호화한다. MHC 단백질은 세포 표면 상에서 발현되며, 면역 반응의 활성화에 수반된다. HLA 클래스 I 유전자는 MHC 클래스 I 분자를 암호화하며, 자기 또는 비-자기 단백질의 펩티드 단편(항원)과의 복합체로 세포 표면 상에서 발현된다. TCR 및 CD3을 발현하는 T 세포는 항원:MHC 클래스 I 복합체를 인식하고 비-자기 단백질을 나타내는 항원 제시 세포를 표적하고 파괴하기 위한 면역 반응을 개시한다.

[0072] 본원에 사용된 바와 같이, "HLA 클래스 I 분자" 또는 "HLA 클래스 I 분자"는 MHC 클래스 I 분자를 암호화하는 야생형 또는 변이체 HLA 클래스 I 유전자의 단백질 생성물을 지칭한다. 따라서, "HLA 클래스 I 분자" 및 "MHC 클래스 I 분자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.

[0073] MHC 클래스 I 분자는 2 개의 단백질 쇄를 포함한다: 알파 쇄 및 β2-마이크로글로불린(β2m) 쇄. 인간 β2m은 B2M 유전자에 의해 암호화된다. β2m의 아미노산 서열은 서열번호: 16에 제시되어 있다(표 2). MHC 클래스 I 분자의 알파 쇄는 HLA 유전자 복합체에 의해 암호화된다. HLA 복합체는 인간 염색체 6의 짧은 아암 상의 6p21.3 영역 내에 위치하고 다양한 기능의 220 개 초과의 유전자를 함유한다. HLA 유전자는 20,000 개 초과의 HLA 대립

유전자, 및 10,000 개 초과의 HLA 클래스 I 단백질을 포함한 수천 개의 HLA 단백을 암호화하는 당업계에 알려진 15,000 개 초과의 HLA 클래스 I 대립유전자를 포함한 관련 대립유전자를 갖는 고도로 변이체이다(예를 들어, hla.alleles.org, 2019년 2월 27일 마지막 방문 참조). HLA 복합체에는 MHC 클래스 I 알파 쇄 단백질을 암호화하는 적어도 3 개의 유전자가 있다: HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C. 또한, HLA-E, HLA-F, 및 HLA-G는 MHC 클래스 I 분자와 회합하는 단백질을 암호화한다.

표 2

인간 β2m의 아미노산 서열

서열번호:	서열
16	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPS DIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVT LSQPKIVKWDRDM

[0074]

[0075] 용어 "자가"는 나중에 재도입될 동일한 개체로부터 유래된 임의의 물질을 지칭한다. 예를 들어, 자가 T 세포 요법은 동일한 대상체로부터 단리된 T 세포를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 용어 "동족이계"는 하나의 개체로부터 유래된 다음 동일한 종의 또 다른 개체에 도입되는 임의의 물질을 지칭한다. 예를 들어, 동족이계 T 세포 이식은 대상체 이외의 공여자로부터 수득된 T 세포를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0076] "암"은 신체에서 비정상적인 세포의 제어되지 않은 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 광범위한 그룹을 지칭한다. 조절되지 않은 세포 분열 및 성장은 이웃 조직을 침범하는 악성 종양의 형성을 초래하고 또한 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위 부분으로 전이될 수 있다. "암" 또는 "암 조직"은 종양을 포함할 수 있다. 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 암의 예는 림프종, 백혈병, 및 다른 백혈구 악성종양을 포함한 면역계의 암을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 본 발명의 방법은 예를 들어, 골암, 신장암, 전립선암, 유방암, 결장암, 폐암, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 췌장암, 피부암, 두경부암, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부의 암, 위암, 고환암, 자궁암, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 음문 암종, 호지킨병, 비호지킨 림프종(NHL), 원발성 종격 거대 B 세포 림프종(PMBC), 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 여포성 림프종(FL), 형질전환된 여포성 림프종, 비장 변연부 림프종(SMZL), 식도암, 소장암, 내분비계의 암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 만성 또는 급성 백혈병, 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병(ALL)(비 T 세포 ALL 포함), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소아의 고형 종양, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 요관의 암, 신우 암종, 중추신경계(CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관형성, 척추 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 유표피암, 편평세포암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유도된 것들을 포함한 환경적으로 유도된 암, 다른 B 세포 악성종양, 및 상기 암의 조합으로부터 유래된 종양의 종양 크기를 줄이는 데 사용될 수 있다. 특정 암은 화학- 또는 방사선 요법에 반응할 수 있거나 또는 암은 난치성일 수 있다. 난치성 암은 외과 수술로 고칠 수 없는 암을 지칭하며, 암은 초기에 화학- 또는 방사선 요법에 반응성하지 않거나 또는 암은 시간 경과에 따라 반응하지 않게 된다.

[0077] 본원에 사용된 바와 같은 "항종양 효과"는 종양 부피 감소, 종양 세포 수 감소, 종양 세포 증식 감소, 전이 수 감소, 전체 또는 무진행 생존 증가, 기대 수명 증가, 또는 종양과 연관된 다양한 생리학적 증상 개선으로 제시될 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. 항종양 효과는 또한 종양 발생의 예방, 예를 들어, 백신을 지칭할 수 있다.

[0078] 본원에 사용된 바와 같이, PFS로 약칭될 수 있는 용어 "무진행 생존"은 개정된 악성 림프종에 대한 IWG 반응 기준 또는 임의의 원인으로 인한 사망에 따라 치료 날짜부터 질환 진행까지의 시간을 지칭한다.

[0079] 본원에 사용된 바와 같이 PD로 약칭될 수 있는 "질환 진행" 또는 "진행성 질환"은 특정 질환과 연관된 하나 이상 증상의 악화를 지칭한다. 예를 들어, 암에 걸린 대상체에 대한 질환 진행은 하나 이상의 악성 병변의 수 또는 크기 증가, 종양 전이, 및 사망을 포함할 수 있다.

[0080] 본원에 사용된 바와 같이 DOR로 약칭될 수 있는 "반응 지속기간"은 개정된 악성 림프종에 대한 IWG 반응 기준, 또는 사망에 따라 대상체의 첫번째 객관적 반응과 확인된 질환 진행 날짜 사이의 기간을 지칭한다.

[0081] OS로 약칭될 수 있는 용어 "전체 생존"은 치료 날짜부터 사망 날짜까지의 시간으로 정의된다.

[0082] 본원에 사용된 바와 같은 "사이토카인"은 특이적 항원과의 접촉에 반응하여 하나의 세포에 의해 방출되는 비-항체 단백질을 지칭하며, 여기서 사이토카인은 제2 세포와 상호작용하여 제2 세포에서의 반응을 매개한다. 사이토카인은 세포에 의해 내인성으로 발현되거나 또는 대상체에게 투여될 수 있다. 사이토카인은 대식세포, B 세포, T 세포, 및 비만 세포를 포함한 면역 세포에 의해 방출되어 면역 반응을 전파할 수 있다. 사이토카인은 수용 세포에서 다양한 반응을 유도할 수 있다. 사이토카인은 항상성 사이토카인, 케모카인, 전염증성 사이토카인, 효과기, 및 급성기 단백질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 인터류킨(IL) 7 및 IL-15를 포함한 항상성 사이토카인은 면역 세포 생존 및 증식을 촉진하고, 전염증성 사이토카인은 염증 반응을 촉진할 수 있다. 항상성 사이토카인의 예는 IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-15, 및 인터페론(IFN) 감마를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 전염증성 사이토카인의 예는 IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-13, IL-17a, 종양 괴사 인자(TNF)-알파, TNF-베타, 섬유모세포 성장 인자(FGF) 2, 과립구 대식세포 콜로니-자극 인자(GM-CSF), 가용성 세포간 접착 분자 1(sICAM-1), 가용성 혈관 접착 분자 1(sVCAM-1), 혈관 내피 성장 인자(VEGF), VEGF-C, VEGF-D, 및 태반 성장 인자(PLGF)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 효과기의 예는 그랜자임 A, 그랜자임 B, 가용성 Fas 리간드(sFasL), 및 퍼포린을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 급성기-단백질의 예는 C-반응성 단백질(CRP) 및 혈청 아밀로이드 A(SAA)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0083] "케모카인"은 세포 주화성, 또는 지향성 운동을 매개하는 사이토카인 유형이다. 케모카인의 예는 IL-8, IL-16, 에오탁신, 에오탁신-3, 대식세포-유래 케모카인(MDC 또는 CCL22), 단핵구 화학주성 단백질 1(MCP-1 또는 CCL2), MCP-4, 대식세포 염증성 단백질 1α(MIP-1α, MIP-1a), MIP-1β(MIP-1b), 감마-유도 단백질 10(IP-10), 및 흉선 및 활성화 조절 케모카인(TARC 또는 CCL17)을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0084] 본 발명의 분석물 및 사이토카인의 다른 예는 케모카인(C-C 모티프) 리간드(CCL) 1, CCL5, 단핵구-특이적 케모카인 3(MCP3 또는 CCL7), 단핵구 화학유인 단백질 2(MCP-2 또는 CCL8), CCL13, IL-1, IL-3, IL-9, IL-11, IL-12, IL-14, IL-17, IL-20, IL-21, 과립구 콜로니-자극 인자(G-CSF), 백혈병 억제 인자(LIF), 온코스타틴 M(OSM), CD154, 림포톡신(LT) 베타, 4-1BB 리간드(4-1BBL), 증식-유도 리간드(APRIL), CD70, CD153, CD178, 글루코코르티코이드-유도 TNFR-관련 리간드(GITRL), 종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 구성원 14(TNFSF14), OX40L, TNF- 및 ApoL-관련 백혈구-발현 리간드 1(TALL-1), 또는 TNF-관련 세포자멸-유도 리간드(TRAIL)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0085] 약물 또는 치료제의 "치료 유효량," "유효 용량," "유효량" 또는 "치료 유효 투여량"은 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합하여 사용되는 경우, 질환 개시로부터 대상체를 보호하거나 또는 질환 증상의 중증도 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간 증가, 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애 예방에 의해 입증된 질환 퇴행을 촉진하는 약물의 임의의 양이다. 질환 퇴행을 촉진하는 치료제의 능력은 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서와 같이 숙련된 의사에게 알려진 다양한 방법을 사용하거나, 또는 시험관내 검정에서 제제의 활성을 검정함으로써 평가될 수 있다.

[0086] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "림프구"는 자연 살해(NK) 세포, T 세포, 또는 B 세포를 포함한다. NK 세포는 고유 면역계의 주요 구성요소를 나타내는 세포독성(세포 독성) 림프구 유형이다. NK 세포는 종양 및 바이러스에 의해 감염된 세포를 거부한다. 이는 세포자멸사 또는 프로그래밍된 세포 사멸 과정을 통해 작동한다. 이들은 세포를 사멸하기 위해 활성화를 필요로 하지 않기 때문에 "자연 살해"라고 명명되었다. T-세포는 세포 매개 면역에서 중요한 역할을 한다(항체 수반 없음). T-세포 수용체(TCR)는 T 세포를 다른 림프구 유형과 구별한다. 면역계의 특수 기관인 흉선은 주로 T 세포의 성숙을 담당한다. 6 개 유형의 T-세포가 있으며, 즉 다음과 같다: 헬퍼 T-세포(예를 들어, CD4+ 세포), 세포독성 T-세포(또한 TC, 세포독성 T 림프구, CTL, T-살해 세포, 세포용해 T 세포, CD8+ T-세포 또는 살해 T 세포로 알려짐), 기억 T-세포((i) 미접촉(naive) 세포와 같은 줄기 기억 T_{SCM} 세포는 CD45RO-, CCR7+, CD45RA+, CD62L+(L-셀렉틴), CD27+, CD28+ 및 IL-7Rα+이지만, 이들은 또한 다량의 CD95, IL-2Rβ, CXCR3, 및 LFA-1을 발현하고, 기억 세포의 독특한 수많은 기능적 속성을 나타내고); (ii) 중추 기억 T_{CM} 세포는 L-셀렉틴 및 CCR7을 발현하고, 이들은 IL-2를 분비하지만, IFNγ 또는 IL-4를 분비하지 않고, (iii) 효과기 기억 T_{EM} 세포는 그러나 L-셀렉틴 또는 CCR7을 발현하지 않지만 IFNγ 및 IL-4와 같은 효과기 사이토카인을 생성함), 조절 T-세포(Treg, 억제인자 T 세포, 또는 CD4+CD25+ 조절 T 세포), 자연 살해 T-세포(NKT) 및 감마 델타 T-세포. 반면에, B-세포는 체액성 면역에 주요한 역할을 한다(항체 수반). B 세포는 항체 및 항원을 만들고 항원-제시 세포(APC)의 역할을 수행하고 항원 상호작용에 의한 활성화 후 기억 B-세포로 바뀐

다. 포유동물에서, 미성숙 B-세포는 골수에서 형성되며, 여기서 이름이 유래된다.

[0087] 용어 "유전적으로 조작된" 또는 "조작된"은 코딩 또는 비-코딩 영역 또는 이의 일부를 결실시키거나 또는 코딩 영역 또는 이의 일부의 삽입하는 것을 포함하나 이에 제한되지 않는 세포의 게놈을 변형하는 방법을 지칭한다. 일부 구현예에서, 변형된 세포는 림프구, 예를 들어, 환자 또는 공여자로부터 수득될 수 있는 CD3을 발현하는 T 세포 또는 변형된 세포이다. 세포는 예를 들어, 세포의 게놈으로 혼입되는 본원에 개시된 T 세포 수용체(TCR)과 같은 외인성 작제물을 발현하도록 변형될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포는 CD3을 발현하도록 변형된다.

[0088] "면역 반응"은 척추동물의 몸체에서 침입한 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 다른 비정상적 세포, 또는, 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우 정상 인간 세포 또는 조직에 대한 선택적 표적화, 결합, 손상, 파괴 및/또는 제거를 초래하는 면역계의 세포(예를 들어, T 림프구, B 림프구, 자연 살해(NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포 및 호중구) 및 이들 세포 중 임의의 것 또는 간에 의해 생성된 가용성 거대분자(Ab, 사이토카인, 및 보체 포함)의 작용을 지칭한다.

[0089] 용어 "면역요법"은 면역 반응의 유도, 향상, 억제 또는 달리 변형시키는 것을 포함하는 방법에 의해 질환에 걸리거나, 또는 질환에 걸릴 위험 또는 재발할 위험이 있는 대상체의 치료를 지칭한다. 면역요법의 예는 T 세포 요법을 포함하나 이에 제한되지 않는다. T 세포 요법은 입양 T 세포 요법, 종양-침윤 림프구(TIL) 면역요법, 자가 세포 요법, 조작된 자가 세포 요법(eACT), 및 동족이계 T 세포 이식을 포함할 수 있다.

[0090] 본원에 기재된 면역요법에 사용되는 세포는 당업계에 알려진 임의의 공급원으로부터 유래할 수 있다. 예를 들어, T 세포는 조혈 줄기 세포 집단으로부터 시험관 내에서 분화될 수 있거나, 또는 T 세포는 대상체로부터 수득될 수 있다. T 세포는 예를 들어, 말초 혈관 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위의 조직, 복수, 흉막 삼출액, 비장 조직, 및 종양으로부터 수득될 수 있다. 또한, T 세포는 당업계에서 이용가능한 하나 이상의 T 세포주로부터 유래될 수 있다. T 세포는 또한 FICOLL™ 분리 및/또는 성분채집술과 같은 당업자에게 알려진 많은 기술을 사용하여 대상체로부터 수집된 혈액 단위로부터 수득될 수 있다. T 세포 요법을 위해 T 세포를 단리하는 추가의 방법은 미국 특허 공개 번호 제2013/0287748호에 개시되어 있으며, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 면역요법은 또한 대상체에게 변형된 세포를 투여하는 것을 포함할 수 있으며, 여기서 변형된 세포는 CD3 및 본원에 개시된 TCR을 발현한다. 일부 구현예에서, 변형된 세포는 T 세포가 아니다.

[0091] 본원에 사용된 바와 같은 "환자"는 암(예를 들어, 림프종 또는 백혈병)에 걸린 임의의 인간을 포함한다. 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.

[0092] 용어 "펩티드," "폴리펩티드," 및 "단백질"은 상호교환가능하게 사용되고, 펩티드 결합에 의해 공유적으로 연결된 아미노산 잔기로 구성된 화합물을 지칭한다. 단백질 또는 펩티드는 적어도 2 개의 아미노산을 함유해야 하며, 단백질 또는 펩티드의 서열을 포함할 수 있는 최대 아미노산 수에는 제한이 없다. 폴리펩티드는 펩티드 결합에 의해 서로에 연결된 2 개 이상의 아미노산을 포함하는 임의의 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 상기 용어는 또한 예를 들어, 펩티드, 올리고펩티드 및 올리고머로서 당업계에서 통상적으로 지칭되는 짧은 쇄, 및 많은 유형이 있는 단백질로서 당업계에서 일반적으로 지칭되는 긴 쇄 둘 다를 지칭한다. "폴리펩티드"는 그 중에서도 예를 들어, 생물학적으로 활성 단편, 실질적으로 상동 폴리펩티드, 올리고펩티드, 동종이량체, 이종이량체, 폴리펩티드의 변이체, 변형된 폴리펩티드, 유도체, 유사체, 융합 단백질을 포함한다. 폴리펩티드는 천연 펩티드, 재조합 펩티드, 합성 펩티드, 또는 이의 조합을 포함한다.

[0093] 본원에 사용된 바와 같은 "자극"은 자극 분자와 이의 동족 리간드의 결합에 의해 유도된 1차 반응을 지칭하며, 여기서 결합은 신호 전달 이벤트를 매개한다. "자극 분자"는 항원 제시 세포 상에 존재하는 동족 자극 리간드와 특이적으로 결합하는 T 세포, 예를 들어, T 세포 수용체(TCR)/CD3 복합체 상의 분자이다. "자극 리간드"는 항원 제시 세포(예를 들어, aAPC, 수지상 세포, B-세포 등) 상에 존재할 때 T 세포 상의 자극 분자와 특이적으로 결합하여, 활성화, 면역 반응 개시, 증식 등을 포함하나 이에 제한되지 않는 T 세포에 의한 1차 반응을 매개할 수 있는 리간드이다. 자극 리간드는 펩티드가 로딩된 MHC 클래스 I 분자, 항-CD3 항체, 초작용제 항-CD28 항체, 및 초작용제 항-CD2 항체를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0094] 용어 "조건화" 및 "예비조건화"는 본원에서 상호교환가능하게 사용되며 적합한 조건에 대한 T 세포 요법을 필요로 하는 환자를 준비하는 것을 나타낸다. 본원에 사용된 바와 같은 조건화는 T 세포 요법 이전에 내인성 림프구 수 감소, 사이토카인 싱크 제거, 하나 이상의 항상성 사이토카인 또는 전염증성 인자의 혈청 수준 증가, 조건화 후 투여된 T 세포의 효과기 기능 향상, 항원 제시 세포 활성화 및/또는 이용가능성 향상, 또는 이의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 일 구현예에서, "조건화"는 하나 이상의 사이토카인, 예를 들어, 인터류

킨 7(IL-7), 인터류킨 15(IL-15), 인터류킨 10(IL-10), 인터류킨 5(IL-5), 감마-유도 단백질 10(IP-10), 인터류킨 8(IL-8), 단핵구 화학주성 단백질 1(MCP-1), 태반 성장 인자(PLGF), C-반응성 단백질(CRP), 가용성 세포간 접착 분자 1(sICAM-1), 가용성 혈관 접착 분자 1(sVCAM-1), 또는 이의 임의의 조합의 혈청 수준을 증가시키는 것을 포함한다. 또 다른 구현예에서, "조건화"는 IL-7, IL-15, IP-10, MCP-1, PLGF, CRP, 또는 이의 임의의 조합의 혈청 수준을 증가시키는 것을 포함한다.

[0095] 대상체의 "치료" 또는 "치료하는"은 증상, 합병증 또는 상태, 또는 질환과 연관된 생화학적 징후의 발병, 진행, 발달, 중증도 또는 재발을 역전시키거나, 완화하거나, 개선시키거나, 억제하거나, 늦추거나 또는 예방할 목적으로 대상체에 대해 수행되는 임의의 유형의 개입 또는 과정, 또는 활성제의 투여를 지칭한다. 일 구현예에서, "치료" 또는 "치료하는"은 부분 관해를 포함한다. 또 다른 구현예에서, "치료" 또는 "치료하는"은 완전 관해를 포함한다.

[0096] 대안(예를 들어, "또는")의 사용은 대안 중 하나, 둘 다, 또는 이의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에 사용된 바와 같이, 부정관사는 임의의 인용되거나 또는 열거된 구성요소의 "하나 이상"을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다.

[0097] 용어 "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 당업자에 의해 결정된 바와 같은 특정 값 또는 조성물에 대해 허용가능한 오차 범위 내에 있는 값 또는 조성물을 지칭하며, 이는 값 또는 조성물이 측정되거나 또는 결정되는 방법, 즉, 측정 시스템의 한계에 부분적으로 의존할 것이다. 예를 들어, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"는 당업계의 관행에 따라 1 개 또는 1 개 초과의 표준 편차 이내를 의미할 수 있다. 대안적으로, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 최대 10%(즉, ±10%)의 범위를 의미할 수 있다. 예를 들어, 약 3mg은 2.7 mg 내지 3.3 mg(10%의 경우)의 임의의 숫자를 포함할 수 있다. 또한, 특히 생물학적 시스템 또는 공정과 관련하여, 용어는 값의 최대 자릿수 또는 최대 5-배를 의미할 수 있다. 특정 값 또는 조성물이 출원 및 청구범위에 제공되는 경우, 달리 언급되지 않는 한, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"의 의미는 해당 특정 값 또는 조성물에 대해 허용가능한 오차 범위 이내인 것으로 가정되어야 한다.

[0098] 본원에 기재된 바와 같이, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는 달리 나타내지 않는 한, 인용된 범위 내의 임의의 정수 값 및, 적절한 경우, 이의 분율(예컨대 정수의 10 분의 1 및 100 분의 1)을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0099] 본 발명의 다양한 측면은 하기 하위섹션에서 추가로 상세히 기재된다.

[0100] **II. 본 개시내용의 조성물**

[0101] 본 개시내용은 NY-ESO-1 상의 에피토프에 특이적으로 결합하는 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분, 이를 암호화하는 핵산 분자, 및 TCR 또는 핵산 분자를 포함하는 세포에 관한 것이다. 본 개시내용의 일부 측면은 본원에 기재된 TCR을 포함하는 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 측면은 TCR이 결합하는 NY-ESO-1의 에피토프 및 NY-ESO-1의 에피토프를 포함하는 펩티드에 복합체화된 HLA 클래스 I 분자에 관한 것이다.

[0102] T-세포 수용체, 또는 TCR은 주요 조직접합성 복합체 (MHC) 분자에 결합된 펩티드로서 항원의 단편을 인식하는 것을 담당하는, T 세포, 또는 T 림프구의 표면 상에서 발견되는 분자이다. TCR 및 항원 펩티드 사이의 결합은 상대적으로 낮은 친화도로 있으며 퇴화하고: 즉, 많은 TCR은 동일한 항원 펩티드를 인식하고 많은 항원 펩티드가 동일한 TCR에 의해 인식된다.

[0103] TCR은 2 개의 상이한 단백질 쇄로 구성된다(즉, 이종이량체임). 인간에서, T 세포의 95%에서 TCR은 알파(α) 쇄 및 베타(β) 쇄(각각 TRA 및 TRB에 의해 암호화됨)로 이루어지는 반면, T 세포의 5%에서, TCR은 감마 및 델타(γ/δ) 쇄(각각 TRG 및 TRD에 의해 암호화됨)로 이루어진다. 이 비율은 개체발생 동안 및 병에 걸린 상태(예컨대 백혈병)에서 변경된다. 또한 이는 종마다 상이하다. 4 개 유전자좌의 상동유전자는 다양한 종에서 맵핑되었다. 각 유전자좌는 불변 및 가변 영역이 있는 다양한 폴리펩티드를 생성할 수 있다.

[0104] TCR이 항원성 펩티드 및 MHC(펩티드/MHC)에 관여하는 경우, T 림프구는 신호 전달, 즉, 연관된 효소, 공-수용체, 특수 어댑터 분자, 및 활성화 또는 방출된 전사 인자에 의해 매개된 일련의 생화학적 이벤트를 통해 활성화된다.

[0105] **II.A. 핵산 분자**

[0106] 본 개시내용의 특정 측면은 (i) 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 TCR 또는 이의 항원 결합 부분("

항-NY-ESO-1 TCR")을 암호화하는 제1 뉴클레오티드 서열; 및 (ii) 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자에 관한 것이며, 여기서 제2 뉴클레오티드 서열 또는 제2 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 폴리펩티드는 내인성 TCR의 발현을 억제한다. 일부 구현예에서, 제2 뉴클레오티드 서열은 비-자연 발생 서열이다. 다른 구현예에서, 제2 뉴클레오티드 서열은 합성이다. 또한 다른 구현예에서, 제2 뉴클레오티드 서열은 내인성 TCR을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 표적하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 참조 TCR과 인간 NY-ESO-1에 대한 결합에 대해 교차 경쟁한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 참조 TCR과 동일한 에피토프 또는 인간 NY-ESO-1의 중첩 에피토프에 결합한다.

[0107] 일부 구현예에서, 참조 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며; 여기서 알파 쇄는 상보성 결정 영역 1(CDR1), CDR2, 및 CDR3을 포함하고; 여기서 베타 쇄는 CDR1, CDR2, 및 CDR3을 포함하고; 여기서 참조 TCR은 서열번호: 7에 제시된 알파 쇄 CDR3 및 서열번호: 10에 제시된 베타 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 알파 쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열, 및 참조 TCR은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 베타 쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 참조 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하고 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

표 3

알파 쇄 및 베타 쇄 TCR 서열

[0108]

서열 번호:	TCR 쇄	서열
1	알파 쇄 (아미노산)	MLLELIPLLGIHFVLRTARAQSVTQPDIHITVSEGASLELR CNYSYGATPYLFWYVQSPGQGLQLLLKYFSGDTLVQGIKGF EAEFKRSQSSFNLRKPSVHWSDAAEYFCAGMDSNYQLIWGA GTKLIIKPDIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTN VSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACA NAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSSZ
17	알파 쇄 (뉴클레오티드)	ATGCTCCTGGAGCTTATCCCACTGCTGGGGATACATTTTGT CCTGAGAACTGCCAGAGCCCAGTCAGTGACCCAGCCTGACA TCCACATCACTGTCTCTGAAGGAGCCTCACTGGAGTTGAGA TGTAACTATTCCTATGGGGCAACACCTTATCTCTTCTGGTA TGTCCAGTCCCCCGGCCAAGGCCTCCAGCTGCTCCTGAAGT ACTTTTCAGGAGACACTCTGGTTCAAGGCATTAAAGGCTTT GAGGCTGAATTTAAGAGGAGTCAATCTTCCTTCAATCTGAG GAAACCCTCTGTGCATTGGAGTGATGCTGCTGAGTACTTCT GTGCCGGCATGGATAGCAACTATCAGTTAATCTGGGGCGCT GGGACCAAGCTAATTATAAAGCCAGATATCCAGAACCCTGA CCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACA AGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAAT GTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAA AACTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACA GTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCA AACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTT CCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGA AAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAAACCTG TCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGG GTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGCTGA

2	베타 쇄 (아미노산)	MSIGLLCCVAFSLLWASPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQ CAQDMNHNSMYWYRQDPGMGLRLIYYSASEGTTDKGEVPNG YNVSRLNKREFSLRLESAAPSQTSVYFCASSLPLGYEQYFG PGTRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRY CLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAK PVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKA TLYAVLVSALVLMAMVKRKDSRGZ
18	베타 쇄 (뉴클레오티드)	ATGAGCATCGGGCTCCTGTGCTGTGTGGCCTTTTCTCTCCT GTGGGCAAGTCCAGTGAATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAA AATTCCAGGTCCTGAAGACAGGACAGAGCATGACACTGCAG TGTGCCCAGGATATGAACCATAACTCCATGTACTGGTATCG ACAAGACCCAGGCATGGGACTGAGGCTGATTTATTACTCAG CTTCTGAGGGTACCACTGACAAAGGAGAAGTCCCCAATGGC TACAATGTCTCCAGATTAAACAAACGGGAGTTCTCGCTCAG GCTGGAGTCGGCTGCTCCCTCCCAGACATCTGTGTACTTCT GTGCCAGCAGTCTCCCTCTAGGCTACGAGCAGTACTTCGGG CCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGACCTGAAAAACGT GTTCCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAG AGATCTCCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCC ACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGT GAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGC AGCCCCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATAC TGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCA GAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACG GGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAA CCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGC AGACTGTGGCTTCACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCC TGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCC ACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGC CATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGCTAG

[0109]

[0110] **II.A.1. 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 TCR**

[0111] 본 개시내용은 본원에 기재된 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 TCR에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 알파 쇄 CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하고; 여기서 베타 쇄는 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 7(CAGMDSNYQLIW)에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 10(CASSLPLGYEQYF)에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 알파 쇄 및/또는 베타 쇄에서 비-CDR 영역은 예를 들어, 1 개 아미노산, 2 개 아미노산, 3 개 아미노산, 4 개 아미노산, 5 개 아미노산, 또는 6 개 아미노산의 치환 또는 돌연변이에 의해 추가로 변형되며, 이에 의해 알파 쇄 및/또는 베타 쇄는 자연 발생하지 않는다. 일부 구현예에서, 치환 또는 돌연변이는 다양한 방식, 예를 들어, 결합 친화도, 결합 특이성, 안정성, 점도, 또는 이의 임의의 조합으로 본원에 기재된 TCR을 개선시킬 수 있다.

[0112] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 CDR1을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR1은 서열번호: 5(YGATPY)에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 베타 쇄 CDR1을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR1은 서열번호: 8(MNHNS)에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0113] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 CDR2를 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR2는 서열번호: 6(YFSGDTLV)에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 베타 쇄 CDR2를 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR2는 서열번호: 9(SASEGT)에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0114] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 가변 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%,

적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 가변 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄 가변 도메인을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열에 존재하는 알파 쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0115] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 가변 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 가변 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄 가변 도메인을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 베타 쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0116] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 알파 쇄 불변 영역 및 베타 쇄 불변 영역 둘 다를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 불변 영역과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 불변 영역과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄 불변 영역을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열에 존재하는 알파 쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄의 내인성, 예를 들어, 자연 발생 불변 영역과 상이한 알파 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 불변 영역의 아미노산 서열에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다.

[0117] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 불변 영역과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 불변 영역과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄 불변 영역을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 존재하는 베타 쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 베타 쇄의 내인성, 예를 들어, 자연 발생 불변 영역과 상이한 베타 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 불변 영역의 아미노산 서열에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다.

[0118] 특정 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도

약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄를 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄를 포함한다.

[0119] 특정 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄를 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄를 포함한다.

[0120] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 둘 다를 포함하며; 여기서 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 둘 다는 내인성 TCR의 상응하는 아미노산 서열에 비해 표적 서열 내에 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0121] **II.A.2. 에피토프**

[0122] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 참조 TCR과 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 13(LAMPFATPM)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 NY-ESO-1의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진 NY-ESO-1의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 에피토프는 NY-ESO-1의 아미노산 잔기 92-100(서열번호: 52), 예를 들어, "NY-ESO-1_{92-100}"로 이루어진다.

[0123] 특정 구현예에서, 에피토프는 HLA 클래스 I 분자로 복합체화된다. 인간 백혈구 항원(HLA) 시스템(인간에서 주요 조직접합성 복합체[MHC])은 면역계의 중요한 부분이며 염색체 6에 위치한 유전자에 의해 제어된다. 이는 T 세포 상의 T-세포 수용체(TCR)에 항원성 펩티드를 제시하도록 전문화된 세포 표면 분자를 암호화한다. (또한 면역계의 개요 참조.) 항원(Ag)을 제시하는 MHC 분자는 2 개의 주요 클래스로 나눠진다: 클래스 I MHC 분자 및 클래스 II MHC 분자.

[0124] 클래스 I MHC 분자는 모든 유핵 세포의 표면 상의 막횡단 당단백질로 존재한다. 온전한 클래스 I 분자는 베타-2 마이크로글로불린 분자에 결합된 알파 중쇄로 이루어진다. 중쇄는 2 개의 펩티드-결합 도메인, Ig-유사 도메인, 및 세포질 꼬리가 있는 막횡단 영역으로 이루어진다. 클래스 I 분자의 중쇄는 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 유전자좌에서 유전자에 의해 암호화된다. CD8 분자를 발현하는 T 세포는 클래스 I MHC 분자와 반응한다. 이들 림프구는 종종 세포독성 기능을 가지며, 임의의 감염된 세포를 인식할 수 있어야 한다. 모든 유핵 세포가 클래스 I MHC 분자를 발현하기 때문에, 모든 감염된 세포는 CD8 T 세포에 대한 항원-제시 세포로 작용할 수 있다(CD8은 클래스 I 중쇄의 비다형성 부분에 결합함). 일부 클래스 I MHC 유전자는 HLA-G(모체 면역 반응으로부터 태아를 보호하는 역할을 할 수 있음) 및 HLA-E(자연 살해[NK] 세포에 대한 특정 수용체에 펩티드를 제시함)과 같은 비고전적 MHC 분자를 암호화한다.

[0125] 일부 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 대립유전자로부터 선택된다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-E, HLA-F, 및 HLA-G 대립유전자로부터 선택된다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-A 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-B 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C 대립유전자이다.

[0126] 많은 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 대립유전자가 당업계에 알려져 있고, 알려진 대립유전자 중 임의의 것이 본 개시 내용에 사용될 수 있다. HLA 대립유전자의 업데이트된 목록은 hla.alleles.org/(2019년 2월 27일 마지막 방문)에서 이용가능하다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:02 대립유전자, HLA-C*03:03 대립유전자, HLA-C*03:04 대립유전자, HLA-C*03:05 대립유전자 및 HLA-C*03:06 대립유전자로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:02 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:03 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:04 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:05 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:06 대립유전자이다.

[0127] 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:02:01; HLA-C*03:02:02:01; HLA-C*03:02:02:02; HLA-C*03:02:02:03; HLA-C*03:02:02:04; HLA-C*03:02:02:05; HLA-C*03:02:03; HLA-C*03:02:04; HLA-C*03:02:05; HLA-C*03:02:06; HLA-C*03:02:07; HLA-C*03:02:08; HLA-C*03:02:09; HLA-C*03:02:10; HLA-C*03:02:11; HLA-C*03:02:12; HLA-C*03:02:13; HLA-C*03:02:14; HLA-C*03:02:15; HLA-C*03:02:16; HLA-C*03:02:17; HLA-C*03:02:18; HLA-C*03:02:19; HLA-C*03:02:20; HLA-C*03:02:21; HLA-C*03:02:22; 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:03:01:01; HLA-C*03:03:01:02; HLA-C*03:03:01:03; HLA-C*03:03:01:04; HLA-C*03:03:01:05; HLA-C*03:03:01:06; HLA-C*03:03:01:07; HLA-C*03:03:01:08; HLA-C*03:03:01:09; HLA-C*03:03:01:10; HLA-C*03:03:01:11; HLA-C*03:03:01:12; HLA-C*03:03:01:13; HLA-C*03:03:01:14; HLA-C*03:03:02; HLA-C*03:03:03; HLA-C*03:03:04; HLA-C*03:03:05; HLA-C*03:03:06; HLA-C*03:03:07; HLA-C*03:03:08; HLA-C*03:03:09; HLA-C*03:03:10; HLA-C*03:03:11; HLA-C*03:03:12; HLA-C*03:03:13; HLA-C*03:03:14; HLA-C*03:03:15; HLA-C*03:03:16; HLA-C*03:03:17; HLA-C*03:03:18; HLA-C*03:03:19; HLA-C*03:03:20; HLA-C*03:03:21; HLA-C*03:03:22; HLA-C*03:03:23; HLA-C*03:03:24; HLA-C*03:03:25; HLA-C*03:03:26; HLA-C*03:03:27; HLA-C*03:03:28; HLA-C*03:03:29; HLA-C*03:03:30; HLA-C*03:03:31; HLA-C*03:03:32; HLA-C*03:03:33; HLA-C*03:03:34; HLA-C*03:03:35; HLA-C*03:03:36; HLA-C*03:03:37; HLA-C*03:03:38; HLA-C*03:03:39; HLA-C*03:03:40; HLA-C*03:03:41; HLA-C*03:03:42; HLA-C*03:03:43; HLA-C*03:03:44; HLA-C*03:03:45; HLA-C*03:03:46; HLA-C*03:03:47; HLA-C*03:03:48; HLA-C*03:03:49; HLA-C*03:03:50; HLA-C*03:03:51; HLA-C*03:03:52; HLA-C*03:03:53; 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:04:01:01; HLA-C*03:04:01:02; HLA-C*03:04:01:03; HLA-C*03:04:01:04; HLA-C*03:04:01:05; HLA-C*03:04:01:06; HLA-C*03:04:01:07; HLA-C*03:04:01:08; HLA-C*03:04:01:09; HLA-C*03:04:01:10; HLA-C*03:04:01:11; HLA-C*03:04:01:12; HLA-C*03:04:01:13; HLA-C*03:04:02; HLA-C*03:04:03; HLA-C*03:04:04; HLA-C*03:04:05; HLA-C*03:04:06; HLA-C*03:04:07; HLA-C*03:04:08; HLA-C*03:04:09; HLA-C*03:04:10; HLA-C*03:04:11; HLA-C*03:04:12; HLA-C*03:04:13; HLA-C*03:04:14; HLA-C*03:04:15; HLA-C*03:04:16; HLA-C*03:04:17; HLA-C*03:04:18; HLA-C*03:04:19; HLA-C*03:04:20; HLA-C*03:04:21; HLA-C*03:04:22; HLA-C*03:04:23; HLA-C*03:04:24; HLA-C*03:04:25; HLA-C*03:04:26; HLA-C*03:04:27; HLA-C*03:04:28; HLA-C*03:04:29; HLA-C*03:04:30; HLA-C*03:04:31; HLA-C*03:04:32; HLA-C*03:04:33; HLA-C*03:04:34; HLA-C*03:04:35; HLA-C*03:04:36; HLA-C*03:04:37; HLA-C*03:04:38; HLA-C*03:04:39; HLA-C*03:04:40; HLA-C*03:04:41; HLA-C*03:04:42; HLA-C*03:04:43; HLA-C*03:04:44; HLA-C*03:04:45; HLA-C*03:04:46; HLA-C*03:04:47; HLA-C*03:04:48; HLA-C*03:04:49; HLA-C*03:04:50; HLA-C*03:04:51; HLA-C*03:04:52; HLA-C*03:04:53; HLA-C*03:04:54; HLA-C*03:04:55; HLA-C*03:04:56; HLA-C*03:04:57; HLA-C*03:04:58; HLA-C*03:04:59; HLA-C*03:04:60; HLA-C*03:04:61; HLA-C*03:04:62; HLA-C*03:04:63; HLA-C*03:04:64; HLA-C*03:04:65; HLA-C*03:04:66; HLA-C*03:04:67; HLA-C*03:04:68; HLA-C*03:04:69; HLA-C*03:04:70; HLA-C*03:04:71; HLA-C*03:04:72; HLA-C*03:04:73; 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:05; HLA-C*03:06:01; 및 HLA-C*03:06:02로 이루어진 군으로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다.

[0128] **II.A.3 제2 뉴클레오티드 서열**

[0129] 본원에 개시된 핵산 분자의 제2 뉴클레오티드 서열은 임의의 서열일 수 있거나 또는 내인성 TCR의 발현을 억제할 수 있는 임의의 폴리펩티드를 암호화할 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 뉴클레오티드 서열은 하나 이상의 siRNA이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 내인성 TCR의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적이다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 야생형 인간 TCR의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 야생형 TCR의 알파 쇄의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 야생형 TCR의 베타 쇄의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 (i) 야생형 TCR의 알파 쇄의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적인 하나 이상의 siRNA 및 (ii) 야생형 TCR의 베타 쇄의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적인 하나 이상의 siRNA를 포함한다.

[0130] 일부 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 서열번호: 53-56으로 이루어진 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함한다(표 4). 일부 구현예에서, 핵산 분자의 제2 뉴클레오티드 서열은 하나 이상의 siRNA를 암호화하며, 여기서 하나 이상의 siRNA는 야생형 TCR의 알파 쇄의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열

에 상보적이고, 여기서 하나 이상의 siRNA는 서열번호: 53 및 54에 제시된 핵산 서열을 포함한다.

표 4

siRNA 서열

서열번호:	siRNA	서열 (뉴클레오티드 1-19 는 리보뉴클레오티드이며; 뉴클레오티드 20-21 은 데옥시리보뉴클레오티드임)
53	siRNA-TCRa-1	GUAAGGAUUCUGAUGUGUATT
54	siRNA-TCRa-2	UACACAUCAGAAUCCUUACTT
55	siRNA-TCRb-1	CCACCAUCCUCUAUGAGAUTT
56	siRNA-TCRb-2	AUCUCAUAGAGGAUGGUGGTT

[0131]

[0132] 일부 구현예에서, 핵산 분자의 제2 뉴클레오티드 서열은 하나 이상의 siRNA를 암호화하며, 여기서 하나 이상의 siRNA는 야생형 TCR의 베타 쇄의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적이고, 여기서 하나 이상의 siRNA는 서열번호: 55 및 56에 제시된 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산 분자의 제2 뉴클레오티드 서열은 하나 이상의 siRNA를 암호화하며, 여기서 하나 이상의 siRNA는 (i) 야생형 TCR의 알파 쇄의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적인 하나 이상의 siRNA로, 여기서 하나 이상의 siRNA는 서열번호: 53 및 54에 제시된 핵산 서열을 포함하는 것; 및 (ii) 야생형 TCR의 베타 쇄의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열 내의 표적 서열에 상보적인 하나 이상의 siRNA로, 여기서 하나 이상의 siRNA는 서열번호: 55 및 56에 제시된 핵산 서열을 포함하는 것을 포함한다.

[0133] 일부 구현예에서, 핵산 분자의 제2 뉴클레오티드 서열은 서열번호: 53-56을 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 뉴클레오티드 서열은 서열번호: 53-56을 포함하며, 여기서 서열번호: 53-56 중 하나 이상은 siRNA를 암호화하지 않는 하나 이상의 핵산에 의해 분리된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 siRNA는 미국 공개 번호 제 2010/0273213 A1호에 개시된 siRNA로부터 선택되며, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0134] 일부 구현예에서, 핵산 분자의 제2 뉴클레오티드 서열은 단백질을 암호화하며, 여기서 단백질은 내인성, 예를 들어, 야생형 TCR의 발현을 억제할 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 뉴클레오티드 서열은 Cas9를 암호화한다.

[0135] **II.A.3 벡터**

[0136] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 핵산 분자를 포함하는 벡터에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 구현예에서, 벡터는 바이러스 입자 또는 바이러스이다. 일부 구현예에서, 벡터는 포유동물 벡터이다. 일부 구현예에서, 벡터는 박테리아 벡터이다.

[0137] 특정 구현예에서, 벡터는 레트로바이러스 벡터이다. 일부 구현예에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터, 렌티바이러스, 센다이 바이러스, 배큘로바이러스 벡터, 엡스타인 바 바이러스 벡터, 파포바바이러스 벡터, 우두 바이러스 벡터, 단순 포진 바이러스 벡터, 및 아데노 연관 바이러스(AAV) 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 벡터는 AAV 벡터이다. 일부 구현예에서, 벡터는 렌티바이러스이다. 특정 구현예에서, 벡터는 AAV 벡터이다. 일부 구현예에서, 벡터는 센다이 바이러스이다. 일부 구현예에서, 벡터는 하이브리드 벡터이다. 본 개시내용에 사용될 수 있는 하이브리드 벡터의 예는 Huang 및 Kamihira, *Biotechnol. Adv. 31(2)*:208-23 (2103)에서 찾을 수 있으며, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0138] **II.B. 재조합 T 세포 수용체(TCR)**

[0139] 본 개시내용의 특정 측면은 인간 NY-ESO-1에 특이적으로 결합하는 재조합 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분("항-NY-ESO-1 TCR")에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 본원에 개시된 핵산 분자에 의해 암호화된다.

[0140] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 참조 TCR과 인간 NY-ESO-1에 대한 결합에 대해 교차 경쟁한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 참조 TCR과 동일한 에피토프 또는 인간 NY-ESO-1의 중첩 에피토프에 결합한다. 일부

구현예에서, 참조 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하고, 참조 TCR로 구성된 알파 쇄는 서열번호: 1에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 참조 TCR의 베타 쇄는 서열번호: 2에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0141] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 불변 영역을 포함하고, 여기서 베타 쇄는 불변 영역을 포함하며; 여기서 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄의 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 불변 영역을 포함하고, 여기서 베타 쇄는 불변 영역을 포함하며; 여기서 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄의 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0142] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 및 베타 쇄를 포함하며, 여기서 알파 쇄는 불변 영역을 포함하고, 여기서 베타 쇄는 불변 영역을 포함하며; 여기서 (i) 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄의 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; (ii) 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄의 불변 영역에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0143] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄는 알파 쇄 CDR1, 알파 쇄 CDR2, 및 알파 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함하고; 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄는 베타 쇄 CDR1, 베타 쇄 CDR2, 및 베타 쇄 CDR3을 포함하는 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄 CDR3을 포함한다.

[0144] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR1은 서열번호: 5에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR1은 서열번호: 8에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0145] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 알파 쇄 CDR2는 서열번호: 6에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR의 베타 쇄 CDR2는 서열번호: 9에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0146] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 가변 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 가변 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄 가변 도메인을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열에 존재하는 알파 쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0147] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 가변 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 가변 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄 가변 도메인을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열에 존재하는 베타 쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0148] 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 알파 쇄 불변 영역 및 베타 쇄 불변 영역 둘 다를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 불변 영역과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성

을 갖는 알파 쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 불변 영역과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄 불변 영역을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열에 존재하는 알파 쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄의 내인성, 예를 들어, 자연 발생 불변 영역과 상이한 알파 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 알파 쇄 불변 영역은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열의 불변 영역의 아미노산 서열에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다.

[0149] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 불변 영역과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 불변 영역과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄 불변 영역을 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열에 존재하는 베타 쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 뉴클레오티드에 의해 암호화된 항-NY-ESO-1 TCR은 베타 쇄의 내인성, 예를 들어, 자연 발생 불변 영역과 상이한 베타 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 베타 쇄 불변 영역은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열의 불변 영역의 아미노산 서열에 비해 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 아미노산 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다.

[0150] 특정 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 알파 쇄 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 알파 쇄를 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 알파 쇄를 포함한다.

[0151] 특정 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 베타 쇄 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 베타 쇄를 포함하며, 여기서 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 10에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄 CDR3을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 베타 쇄를 포함한다.

[0152] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 둘 다를 포함하며; 여기서 알파 쇄 불변 영역, 베타 쇄 불변 영역, 또는 둘 다는 내인성 TCR의 상응하는 아미노산 서열에 비해 표적 서열 내에 적어도 1 개, 적어도 2 개, 적어도 3 개, 적어도 4 개, 또는 적어도 5 개 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0153] **II.B.2. 에피토프**

[0154] 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 참조 TCR과 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 13(LAMPFATPM)에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 NY-ESO-1의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-NY-ESO-1 TCR은 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진 NY-ESO-1의 에피토프에 결합한다. 일부 구현예에서, 에피토프는 NY-ESO-1의 아미노산 잔기 92-100(서열번호: 52), 예를 들어, "NY-ESO-1_{92-100}"으로 이루어진다.

[0155] 특정 구현예에서, 에피토프는 HLA 클래스 I 분자로 복합체화된다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 대립유전자로부터 선택된다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-E, HLA-F, 및 HLA-G 대립유전자로부터 선택된다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-A 대립유전자이다. 특정 구현예

에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-B 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C 대립유전자이다.

[0156] 많은 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C 대립유전자가 당업계에 알려져 있으며, 알려진 대립유전자 중 임의의 것이 본 개시내용에 사용될 수 있다. HLA 대립유전자의 업데이트된 목록은 hla.alleles.org/(2019년 2월 27일 마지막 방문)에서 이용가능하다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:02 대립유전자, HLA-C*03:03 대립유전자, HLA-C*03:04 대립유전자, HLA-C*03:05 대립유전자 및 HLA-C*03:06 대립유전자에서 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:02 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:03 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:04 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:05 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:06 대립유전자이다.

[0157] 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:02:01; HLA-C*03:02:02:01; HLA-C*03:02:02:02; HLA-C*03:02:02:03; HLA-C*03:02:02:04; HLA-C*03:02:02:05; HLA-C*03:02:03; HLA-C*03:02:04; HLA-C*03:02:05; HLA-C*03:02:06; HLA-C*03:02:07; HLA-C*03:02:08; HLA-C*03:02:09; HLA-C*03:02:10; HLA-C*03:02:11; HLA-C*03:02:12; HLA-C*03:02:13; HLA-C*03:02:14; HLA-C*03:02:15; HLA-C*03:02:16; HLA-C*03:02:17; HLA-C*03:02:18; HLA-C*03:02:19; HLA-C*03:02:20; HLA-C*03:02:21; HLA-C*03:02:22; 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:03:01:01; HLA-C*03:03:01:02; HLA-C*03:03:01:03; HLA-C*03:03:01:04; HLA-C*03:03:01:05; HLA-C*03:03:01:06; HLA-C*03:03:01:07; HLA-C*03:03:01:08; HLA-C*03:03:01:09; HLA-C*03:03:01:10; HLA-C*03:03:01:11; HLA-C*03:03:01:12; HLA-C*03:03:01:13; HLA-C*03:03:01:14; HLA-C*03:03:02; HLA-C*03:03:03; HLA-C*03:03:04; HLA-C*03:03:05; HLA-C*03:03:06; HLA-C*03:03:07; HLA-C*03:03:08; HLA-C*03:03:09; HLA-C*03:03:10; HLA-C*03:03:11; HLA-C*03:03:12; HLA-C*03:03:13; HLA-C*03:03:14; HLA-C*03:03:15; HLA-C*03:03:16; HLA-C*03:03:17; HLA-C*03:03:18; HLA-C*03:03:19; HLA-C*03:03:20; HLA-C*03:03:21; HLA-C*03:03:22; HLA-C*03:03:23; HLA-C*03:03:24; HLA-C*03:03:25; HLA-C*03:03:26; HLA-C*03:03:27; HLA-C*03:03:28; HLA-C*03:03:29; HLA-C*03:03:30; HLA-C*03:03:31; HLA-C*03:03:32; HLA-C*03:03:33; HLA-C*03:03:34; HLA-C*03:03:35; HLA-C*03:03:36; HLA-C*03:03:37; HLA-C*03:03:38; HLA-C*03:03:39; HLA-C*03:03:40; HLA-C*03:03:41; HLA-C*03:03:42; HLA-C*03:03:43; HLA-C*03:03:44; HLA-C*03:03:45; HLA-C*03:03:46; HLA-C*03:03:47; HLA-C*03:03:48; HLA-C*03:03:49; HLA-C*03:03:50; HLA-C*03:03:51; HLA-C*03:03:52; HLA-C*03:03:53; 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:04:01:01; HLA-C*03:04:01:02; HLA-C*03:04:01:03; HLA-C*03:04:01:04; HLA-C*03:04:01:05; HLA-C*03:04:01:06; HLA-C*03:04:01:07; HLA-C*03:04:01:08; HLA-C*03:04:01:09; HLA-C*03:04:01:10; HLA-C*03:04:01:11; HLA-C*03:04:01:12; HLA-C*03:04:01:13; HLA-C*03:04:02; HLA-C*03:04:03; HLA-C*03:04:04; HLA-C*03:04:05; HLA-C*03:04:06; HLA-C*03:04:07; HLA-C*03:04:08; HLA-C*03:04:09; HLA-C*03:04:10; HLA-C*03:04:11; HLA-C*03:04:12; HLA-C*03:04:13; HLA-C*03:04:14; HLA-C*03:04:15; HLA-C*03:04:16; HLA-C*03:04:17; HLA-C*03:04:18; HLA-C*03:04:19; HLA-C*03:04:20; HLA-C*03:04:21; HLA-C*03:04:22; HLA-C*03:04:23; HLA-C*03:04:24; HLA-C*03:04:25; HLA-C*03:04:26; HLA-C*03:04:27; HLA-C*03:04:28; HLA-C*03:04:29; HLA-C*03:04:30; HLA-C*03:04:31; HLA-C*03:04:32; HLA-C*03:04:33; HLA-C*03:04:34; HLA-C*03:04:35; HLA-C*03:04:36; HLA-C*03:04:37; HLA-C*03:04:38; HLA-C*03:04:39; HLA-C*03:04:40; HLA-C*03:04:41; HLA-C*03:04:42; HLA-C*03:04:43; HLA-C*03:04:44; HLA-C*03:04:45; HLA-C*03:04:46; HLA-C*03:04:47; HLA-C*03:04:48; HLA-C*03:04:49; HLA-C*03:04:50; HLA-C*03:04:51; HLA-C*03:04:52; HLA-C*03:04:53; HLA-C*03:04:54; HLA-C*03:04:55; HLA-C*03:04:56; HLA-C*03:04:57; HLA-C*03:04:58; HLA-C*03:04:59; HLA-C*03:04:60; HLA-C*03:04:61; HLA-C*03:04:62; HLA-C*03:04:63; HLA-C*03:04:64; HLA-C*03:04:65; HLA-C*03:04:66; HLA-C*03:04:67; HLA-C*03:04:68; HLA-C*03:04:69; HLA-C*03:04:70; HLA-C*03:04:71; HLA-C*03:04:72; HLA-C*03:04:73; 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:05; HLA-C*03:06:01; 및 HLA-C*03:06:02로 이루어진 군으로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다.

[0158] **II.B.3. 이중특이적 T 세포 수용체(TCR)**

[0159] 본 개시내용의 특정 측면은 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 TCR에 관한 것이며, 여기서 제1 항원-결합 도메인은 본원에 개시된 TCR 또는 이의 항원-결합 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인은 단일 쇄 가변 단편("scFv")을 포함한다.

[0160] 일부 구현예에서, 제2 항원-결합 도메인은 T 세포의 표면 상에서 발현된 단백질에 특이적으로 결합한다. T 세포의 표면 상에서 발현된 임의의 단백질은 본원에 개시된 이중특이적 항체에 의해 표적화될 수 있다. 특정 구현예에서, T 세포의 표면 상에서 발현된 단백질은 다른 세포에 의해 발현되지 않는다. 일부 구현예에서, T 세포의 표면 상에서 발현된 단백질은 하나 이상의 다른 인간 면역 세포의 표면 상에서 발현된다. 일부 구현예에서, T 세포의 표면 상에서 발현된 단백질은 하나 이상의 다른 인간 면역 세포의 표면 상에서 발현되지만, 인간 비-면역 세포의 표면 상에서 발현되지 않는다. 일부 구현예에서, 제2 항원-결합 도메인은 CD3, CD2, CD5, CD6, CD8, CD11a(LFA-1α), CD43, CD45, 및 CD53으로부터 선택된 T 세포의 표면 상에서 발현된 단백질에 특이적으로 결합한다. 특정 구현예에서, 제2 항원-결합 도메인은 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 제2 항원-결합 도메인은 scFv를 포함한다.

[0161] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 공유 결합에 의해 연결되거나 또는 회합된다. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 펩티드 결합에 의해 연결된다.

[0162] **II.C. TCR을 발현하는 세포**

[0163] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 핵산 분자, 본원에 개시된 벡터, 본원에 개시된 재조합 TCR, 본원에 개시된 이중특이적 TCR, 또는 이의 임의의 조합을 포함하는 세포에 관한 것이다. 임의의 세포가 본 개시내용에 사용될 수 있다.

[0164] 특정 구현예에서, 세포는 CD3을 발현한다. CD3 발현은 자연 발생일 수 있으며, 예를 들어, CD3은 세포에 의해 내인성으로 발현된 핵산 서열로부터 발현된다. 예를 들어, T 세포 및 자연 살해(NK) 세포는 CD3을 자연적으로 발현한다. 따라서, 일부 구현예에서, 세포는 T 세포 또는 자연 살해 세포이다. 특정 구현예에서, 세포는 자연 살해 T(NKT) 세포 및 선천적 림프계 세포(ILC)로부터 선택된 T 세포이다.

[0165] 일부 구현예에서, T 세포는 인간 대상체로부터 단리된다. 일부 구현예에서, 인간 대상체는 궁극적으로 T 세포 요법을 받을 동일한 대상체이다. 다른 구현예에서, 대상체는 공여자 대상체이며, 여기서 공여자 대상체는 T 세포 요법을 받을 동일한 대상체가 아니다.

[0166] 일부 구현예에서, 세포는 CD3을 자연적으로 발현하지 않는 세포이며, 여기서 세포는 CD3을 발현하도록 변형되었다. 일부 구현예에서, 세포는 CD3을 암호화하는 이식유전자를 포함하며, 여기서 이식유전자는 세포에 의해 발현된다. 일부 구현예에서, 세포는 세포에 의한 내인성 CD3의 발현을 활성화하는 단백질을 암호화하는 이식유전자를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 세포에서 CD3 발현의 억제제를 억제하는 단백질 또는 siRNA를 암호화하는 이식유전자를 포함한다. 일부 구현예에서, 이식유전자는 세포의 게놈에 혼입된다. 일부 구현예에서, 이식유전자는 세포의 게놈에 혼입되지 않는다.

[0167] 일부 구현예에서, CD3을 발현하도록 변형된 세포는 인간 대상체로부터 단리된다. 일부 구현예에서, 인간 대상체는 궁극적으로 세포 요법을 받을 동일한 대상체이다. 다른 구현예에서, 대상체는 공여자 대상체이며, 여기서 공여자 대상체는 세포 요법을 받을 동일한 대상체가 아니다.

[0168] **II.D. HLA 클래스 I 분자**

[0169] 본 개시내용의 특정 측면은 펩티드에 복합체화된 HLA 클래스 I 분자에 관한 것이며, 여기서 펩티드는 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 펩티드는 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열로 이루어진다.

[0170] 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 HLA-E, HLA-F, 또는 HLA-G이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 1 분자는 HLA-C*03:02 allele, an HLA-C*03:03 allele, an HLA-C*03:04 allele, an HLA-C*03:05 allele, and an HLA-C*03:06 allele로부터 선택된 HLA-C 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:02 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:03 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:04 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:05 대립유전자이다. 특정 구현예에서, HLA-C 대립유전자는 HLA-C*03:06 대립유전자이다. 일부 구현예에서, HLA 대립유전자는 본원, 예를 들어, 상기에 개시된 임의의 HLA 대립유전자이다.

[0171] 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 알파 쇄 및 β2m을 포함한다. 일부 구현예에서, 알파 쇄는 α1 도메인, α2 도메인, α3 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, β2m은 서열번호: 16에 제시된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97% 적어도 약 98%, 적어도

약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 알파 쇄의 서열은 hla.alleles.org(2019년 2월 27일 마지막 방문)에서 이용가능한 HLA 단백질 서열 중 임의의 것으로부터 선택된다.

[0172] 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 단량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 이량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 다량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 삼량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 사량체이다. 일부 구현예에서, HLA 클래스 I 분자는 오량체이다.

[0173] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 임의의 HLA 클래스 I 분자를 포함하는 항원 제시 세포(APC)에 관한 것이다. 특정 구현예에서, APC는 APC의 표면 상에서 HLA 클래스 I 분자를 발현하였다. 특정 구현예에서, APC는 본원에 개시된 하나 초과의 HLA 클래스 I 분자를 포함한다.

[0174] **II.D. 백신**

[0175] 본 개시내용의 특정 측면은 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 펩티드를 포함하는 암 백신에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 암 백신은 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 백신은 하나 이상의 부형제를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 백신은 하나 이상의 추가의 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가의 펩티드는 하나 이상의 추가의 에피토프를 포함한다.

[0176] **III. 본 개시내용의 방법**

[0177] 본 개시내용의 특정 측면은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 다른 측면은 항원-표적화 세포를 조작하는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용이 다른 측면은 인간 대상체로부터 수득된 T 세포의 표적 집단을 풍부화하는 방법에 관한 것이다.

[0178] **III.A. 암을 치료하는 방법**

[0179] 본 개시내용의 특정 측면은 본원에 개시된 핵산 분자, 본원에 개시된 재조합 TCR, 본원에 개시된 이중특이적 TCR, 본원에 개시된 에피토프, 또는 본원에 개시된 HLA 클래스 I 분자, 또는 상기 중 임의의 것을 포함하는 벡터 또는 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0180] 일부 구현예에서, 암은 흑색종, 골암, 신장암, 전립선암, 유방암, 결장암, 폐암, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 췌장암, 피부암, 두경부암, 자궁암, 난소암, 직장암, 항문부의 암, 위암, 고환암, 자궁암, 나팔관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 음문 암종, 호지킨병, 비호지킨 림프종(NHL), 원발성 종격 거대 B 세포 림프종(PMBC), 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL), 여포성 림프종(FL), 형질전환된 여포성 림프종, 비장 변연부 림프종(SMZL), 식도암, 소장암, 내분비계의 암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연조직 육종, 요도암, 음경암, 만성 또는 급성 백혈병, 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병(ALL)(비 T 세포 ALL 포함), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 소아의 고형 종양, 림프구성 림프종, 방광암, 신장 또는 요관의 암, 신우 암종, 중추신경계(CNS)의 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관형성, 척추 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 유표피암, 편평세포암, T-세포 림프종, 석면에 의해 유도된 것들을 포함한 환경적으로 유도된 암, 다른 B 세포 악성종양, 및 상기 암의 조합으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 암은 흑색종이다.

[0181] 일부 구현예에서, 암은 재발성이다. 일부 구현예에서, 암은 난치성이다. 일부 구현예에서, 암은 진행성이다. 일부 구현예에서, 암은 전이성이다.

[0182] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 대상체에서 암을 치료한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 암의 하나 이상의 증상의 중증도를 감소시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 암으로부터 유래된 종양의 크기 또는 수를 감소시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 본원에 개시된 방법이 제공되지 않은 대상체에 비해, 대상체의 전체 생존을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 본원에 개시된 방법이 제공되지 않은 대상체에 비해, 대상체의 무진행 생존을 증가시킨다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 대상체에서 부분 반응을 유발한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 대상체에서 완전 반응을 유발한다.

[0183] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 본원에 기재된 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 것을 포함하며, 여기서 세포는 본원에 개시된 핵산 분자, 본원에 개시된 벡터, 본원에 개시된 재조합 TCR, 및/또는 본원에 개시된 이중특이적 항체를 포함한다. 일부

구현예에서, 세포는 T 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 CD3을 발현하도록 조작된 세포이다.

[0184] 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어, T 세포는 대상체로부터 수득된다. 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어, T 세포는 대상체 이외의 공여자로부터 수득된다.

[0185] 일부 구현예에서, 대상체는 세포를 투여하기 전에 예비조건화된다. 예비조건화는 T 세포 기능 및/또는 생존을 촉진하는 임의의 물질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 화학요법, 사이토카인, 단백질, 소분자, 또는 이의 임의의 조합을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 인터류킨을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 IL-2, , IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21, 또는 이의 임의의 조합을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 사이클로포스파미드, 플루다라빈, 또는 둘 다를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 예비조건화는 비타민 C, AKT 억제제, ATRA(베사노이드, 트레티노인), 라파마이신, 또는 이의 임의의 조합을 투여하는 것을 포함한다.

[0186] **III.B. 항원-표적화 세포를 조작하는 방법**

[0187] 본 개시내용의 특정 측면은 항원-표적화 세포를 조작하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 항원은 NY-ESO-1 항원이다. 일부 구현예에서, 방법은 본원에 개시된 핵산 분자 또는 본원에 개시된 벡터로 세포를 형질도입하는 단계를 포함한다. 세포는 본원에 기재된 임의의 세포일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 T 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 바와 같이, CD3을 발현하도록 변형된 세포이다. 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어, T 세포는 T 세포 요법을 필요로 하는 대상체로부터 수득된다. 일부 구현예에서, 세포는 T 세포 요법을 필요로 하는 대상체 이외의 공여자로부터 수득된다. 일부 구현예에서, 세포는 T 세포 또는 자연 살해 세포이다.

[0188] **III.C. T 세포의 표적 집단을 풍부화하는 방법**

[0189] 본 개시내용의 특정 측면은 인간 대상체로부터 수득된 T 세포의 표적 집단을 풍부화하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 방법은 본원에 개시된 HLA 클래스 I 분자를 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 본원에 개시된 APC를 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 접촉 후, 풍부화된 T 세포 집단은 접촉 전에 HLA 클래스 I 분자에 결합할 수 있는 T 세포의 수에 비해 HLA 클래스 I 분자에 결합할 수 있는 더 많은 T 세포의 수를 포함한다.

[0190] 일부 구현예에서, 방법은 펩티드를 시험관 내에서 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 펩티드는 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 펩티드를 시험관 내에서 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 펩티드는 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 구현예에서, 접촉 후, 풍부화된 T 세포 집단은 접촉 전에 HLA 클래스 I 분자에 결합할 수 있는 T 세포의 수에 비해 HLA 클래스 I 분자에 결합할 수 있는 더 많은 T 세포의 수를 포함한다.

[0191] 본 개시내용의 일부 측면은 종양 세포를 표적화할 수 있는 T 세포를 선택하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 방법은 펩티드를 시험관 내에서 단리된 T 세포의 집단과 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 펩티드는 서열번호: 13에 제시된 바와 같은 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 구현예에서, T 세포는 인간 대상체로부터 수득된다.

[0192] 인간 대상체로부터 수득된 T 세포는 본원에 개시된 임의의 T 세포일 수 있다. 일부 구현예에서, 인간 대상체로부터 수득된 T 세포는 종양 침윤 림프구(TIL)이다.

[0193] 일부 구현예에서, 방법은 풍부화된 T 세포를 인간 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 본원에 기재된 바와 같이, T 세포를 받기 전에 예비조건화된다.

[0194] 본원에 기재된 모든 다양한 측면, 구현예, 및 옵션은 임의의 및 모든 변이로 조합될 수 있다.

[0195] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 각각의 개별 간행물, 특허, 또는 특허 출원이 참조로 포함되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 나타난 것과 동일한 정도로 본원에 참조로 포함된다.

[0196] 본 개시내용이 일반적으로 기재되어 있으며, 본원에 제공된 실시예를 참조하여 추가의 이해가 수득될 수 있다. 이들 실시예는 단지 예시를 위한 것이며 제한하려는 것으로 의도되지 않는다.

[0197] 실시예

[0198] ***실시예 1***

[0199] TIL을 전이성 흑색종 환자로부터 단리한 다음, 시험관 내에서 다클론적으로 확장시키고, HLA-C*03:04 대립유전자에 대한 NY-ESO-1 항원 특이성을 조사하였다. 펩티드/HLA(pHLA) 다량체를 사용한 구조-기반 분석 및 기능적 분석의 조합을 사용하여 Ag-특이적 T 세포 반응을 측정하였다.

[0200] pHLA 다량체 생산은 알려진 정확한 서열을 갖는 펩티드의 사용을 필요로 하므로, pHLA 다량체-기반 전략을 사용하여 새로운 에피토프 펩티드에 대한 고처리량 스크리닝을 수행하는 것은 간단하거나 또는 실용적이지 않다. pHLA 다량체를 사용한 구조-기반 분석 이외에, 기능적 분석을 적용하여 T 세포의 항원 특이성을 결정할 수 있다. 본 발명자들은 더 긴 펩티드를 취하고 처리하여 클래스 I 분자를 통해 에피토프 펩티드를 제시할 수 있는 인공 항원-제시 세포(APC)를 자극자 세포로 사용하여 기능적 검정을 수행하였다. HLA-C*03:04-인공 APC를 NY-ESO-1의 전체 단백질을 다루기 위해 중첩 펩티드로 펄스하고(표 5) 사이토카인 ELISPOT 검정에서 자극인자로 사용하였다. NY-ESO-1-유래 중첩 펩티드로 펄스된 C*03:04-인공 APC로 자극될 때, $C*03:04^{+}$ 흑색종 TIL은 IFN-γ ELISPOT 분석에서 공유 서열 $_{91}$YLAMPFATPM$_{100}$을 갖는 3 개의 인접한 펩티드에 대해 양성 반응을 보였다(도 1). 일련의 돌연변이체 결실 펩티드를 사용하여, 본 발명자들은 C*03:04 분자에 의해 제시된 최소로 필요한 펩티드 에피토프 $_{92}$LAMPFATPM$_{100}$을 결정하였다. 중요한 점은 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} 다량체가 다클론적으로 확장된 TIL의 18.2%까지 성공적으로 염색시켰다는 점이고, 이는 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} T 세포가 TIL의 지배적인 집단이었음을 시사한다(도 2a-2c). 다량체-양성 T 세포는 ELISPOT 분석에 따라 HLA-제한 펩티드-특이적 방식으로 검출가능한 IFN-γ를 분비하였다(도 3).

표 5

NY-ESO-1 중첩 펩티드

위치	펩티드 서열	서열번호
1	MQAEGRGTGGSTGDADGPGG	19
6	RGTGGSTGDADGPGGPGIPD	20
11	STGDADGPGGPGIPDGPGGN	21

[0201]

16	DGPGGPGIPDGPGGNAGGPG	22
21	PGIPDGPGGNAGGPGEAGAT	23
26	GPGGNAGGPGEAGATGGRGP	24
31	AGGPGEAGATGGRGPRGAGA	25
36	EAGATGGRGPRGAGAARASG	26
41	GGRGPRGAGAARASGPGGGA	27
46	RGAGAARASGPGGGAPRGPH	28
51	ARASGPGGGAPRGPHGGAAS	29
56	PGGGAPRGPHGGAASGLNGC	30
61	PRGPHGGAASGLNGCCRCGA	31
66	GGAASGLNGCCRCGARGPES	32
71	GLNGCCRCGARGPESRLLEF	33
76	CRCGARGPESRLLEFYLAMP	34
81	RGPESRLLEFYLAMPFATPM	35
86	RLLEFYLAMPFATPMEAELA	36
91	YLAMPFATPMEAELARRSLA	37
96	FATPMEAELARRSLAQDAPP	38
101	EAELARRSLAQDAPPLPVPG	39
106	RRSLAQDAPPLPVPGVLLKE	40
111	QDAPPLPVPGVLLKEFTVSG	41
116	LPVPGVLLKEFTVSGNILTI	42
121	VLLKEFTVSGNILTIRLTAA	43
126	FTVSGNILTIRLTAADHRQL	44
131	NILTIRLTAADHRQLQLSIS	45
136	RLTAADHRQLQLSISSCLQQ	46
141	DHRQLQLSISSCLQQLSLLM	47
146	QLSISSCLQQLSLLMWITQC	48
151	SCLQQLSLLMWITQCFLPVF	49
156	LSLLMWITQCFLPVFLAQPP	50
161	WITQCFLPVFLAQPPSGQRR	51

[0202]

[0203] 다량체-양성 항종양 T 세포를 수집하였고 이의 TCR 유전자를 분자적으로 클로닝하였다(도 4a-4i, 서열번호: 1 및 2). 클로닝된 TCR의 항원 특이성 및 기능적 반응성을 TCR-재구성된 T 세포의 다량체 염색 및 ELISPOT 검정에 의해 확인하였다. 1차 T 세포 상에 재구성되는 경우, C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR-형질도입된 T 세포는 동족 다량체로 성공적으로 염색되었고(도 5a-5d), 표면 C*03:04 분자에 의해 제시된 NY-ESO-1_{92-100} 펩티드와 강하게 반응하였다(도 6). 중요하게는, 이러한 세포는 NY-ESO-1 유전자를 자연적으로 발현하는 C*03:04-일치 및 펩티드-비펼스 종양 세포를 인식할 수 있었다. A375 및 SK-MEL-37 흑색종 세포주 모두가 C*03:04에 대해 음성이지만, 이들은 NY-ESO-1 유전자를 내인성으로 발현한다. C*03:04 분자가 이소성으로 발현되는 경우, 두 가지 흑색종 세포주 모두 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR-형질도입된 T 세포에 의해 성공적으로 인식되었다. 더욱이, NY-ESO-1의 내인성 발현이 결여된 SK-MEL-21 흑색종 세포는 전장 NY-ESO-1 유전자가 형질도입되었을 경우 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR-형질도입된 T 세포에 대해 반응성이 되었다(도 7a-7b, 8a-8e 및 9a-9d). 이러한 결과는 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR-형질도입된 T 세포가 종양 세포를 인식하기에 충분히 광적이었고 클로닝된 C*03:04/NY-ESO-1_{92-100} TCR이 종양-반응성이었음을 명확하게 입증한다.

[0204] 새롭게 클로닝된 종양-반응성 C*03:04-제한 NY-ESO-1 TCR 유전자의 사용은 HLA-A*02:01-양성 암 환자를 넘어 항-NY-ESO-1 TCR 유전자 요법의 적용가능성을 넓힐 수 있다.

[0205] **방법**

[0206] *세포 샘플*

[0207] 말초 혈액 샘플을 기관 검토 위원회(Institutional Review Board) 승인 후 건강한 공여자로부터 수득하였다. 단

핵 세포를 밀도 구배 원심분리(Ficoll-Paque PLUS; GE Healthcare)를 통해 수득하였다. K562는 HLA 발현에 결함이 있는 적백혈병 세포주이다. T2는 HLA-A*02:01^{+} T 세포 백혈병/B-LCL 하이브리드 세포주이다. Jurkat 76은 TCR 및 CD8 발현이 결여된 T 세포 백혈병 세포주이다. A375, SK-MEL-21, SK-MEL-37 및 LM-MEL-53이 흑색종 세포주이다. LM-MEL-53을 제외한 흑색종 세포주를 10% FBS 및 50 μg/ml 겐타마이신이 보충된 DMEM에서 성장시켰다(Invitrogen). K562, T2, Jurkat 76 및 LM-MEL-53 세포주를 10% FBS 및 50 μg/ml 겐타마이신이 보충된 RPMI 1640에서 배양하였다. 전이성 흑색종 환자로부터 단리된 TIL을 시험관 내에서 성장시켰다.

[0208] *펩티드*

[0209] 합성 펩티드를 DMSO에 50 μg/ml로 용해시켰다. 사용된 펩티드는 NY-ESO-1 및 C*03:04-제한 NY-ESO-1_{92-100}(LAMPFATPM), MAGE-$A1_{230-238}$(SAYGEPRKL) 및 HIV $gag_{164-172}$(YVDRFFKTL) 펩티드의 전체 단백질을 다루는 20-mer 중첩 펩티드였다. MAGE-$A1_{230-238}$ 및 HIV $gag_{164-172}$ 펩티드를 음성 대조군으로 활용하였다.

[0210] *유전자*

[0211] HLA-C*03:04 유전자를 내부 리보솜 진입 부위를 통해 인간 신경 성장 인자 수용체의 절두된 버전(ΔNGFR)과 융합하였다. ΔNGFR-형질도입된 세포를 항-NGFR 단클론 항체(mAb)를 사용하여 단리하였다. 공개된 서열(서열번호: 52)에 따라 RT-PCR를 통해 Me275 세포에서 전장 NY-ESO-1 유전자를 클로닝하였다. TCR 유전자를 SMARTer RACE cDNA 증폭 키트(Takara Bio)를 사용하여 cDNA 말단의 5'-신속 증폭(RACE) PCR에 의해 클로닝하였다. TCRα 유전자를 클로닝하기 위해, 1회차 PCR의 경우, 공급된 5'-RACE 프라이머 및 3'-TCRα 미번역 영역 프라이머(5'-GGAGAGTTCCCTCTGTTTGGAGAG-3'; 서열번호: 57)를 사용하여 cDNA를 증폭시켰다. 변형된 5'-RACE 프라이머(5'-GTGTGGTGGTACGGGAATTCAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT-3'; 서열번호: 58) 및 3'-TCRα 프라이머(5'-ACCACTGTGCTGGCGGCCGCTCAGCTGGACCACAGCCGCAGCG-3'; 서열번호: 59)를 사용하여, 2회차 PCR을 수행하였다. TCRβ 유전자를 클로닝하기 위해, 1회차 PCR의 경우,공급된 5'-RACE 프라이머 및 β C 영역-특이적 역 프라이머, 3'-Cβ-1 (5'-ATCGTCGACCACTGTGCTGGCGGCCGCTCGAGTTCCAGGGCTGCCTTCAGAAATCC-3'; 서열번호: 60) 및 3'-Cβ-2 (5'-GACCACTGTGCTGGCGGCCGCTCGAGCTAGCCTCTGGAATCCTTTCTCTTGACCATTGC-3'; 서열번호: 61)를 사용하여 cDNA를 증폭시켰다. 변형된 5'-RACE 프라이머 및 β C 영역-특이적 역 프라이머를 사용하여, 2회차 PCR를 수행하였다. TCRα 및 β 유전자 대립유전자 명칭은 International ImMunoGeneTics Information System 고유 유전자 명명법(http://www.imgt.org)을 따른다. 모든 유전자를 pMX 레트로바이러스 벡터에 클로닝하고 293GPG 세포-기반 레트로바이러스 시스템을 사용하여 형질도입하였다.

[0212] *형질감염체*

[0213] Jurkat 76/CD8 세포를 개별 TCRα 및 TCRβ 유전자로 형질도입하였다. Jurkat 76/CD8-유래 TCR 형질감염체를 CD3 마이크로비드(Miltenyi Biotec)를 사용하여 정제하였다(>95% 순도). CD80 및 CD83과 함께 단일 HLA 대립유전자로서 다양한 HLA 클래스 I 유전자를 개별적으로 발현하는 K562-기반 인공 APC는 이전에 보고되었다(Butler 및 Hirano, *Immunol. Rev. 257*:191-209 (2014); Hirano 등, *Clin. Cancer Res. 12*:2967-75 (2006)). PG13-유래 레트로바이러스 상청액을 사용하여 TCR 유전자를 인간 1차 T 세포로 형질도입하였다. TransIT293(Mirus Bio)을 사용하여 TCR 유전자를 293GPG 세포주로 형질감염시켰다. NY-ESO-1^{-} SK-MEL-21 세포를 전장 NY-ESO-1 유전자와 함께 레트로바이러스로 형질도입하여 SK-MEL-21/NY-ESO-1 세포를 생성하였다. 형질도입된 NY-ESO-1의 발현을 항-NY-ESO-1 mAb(클론 D1Q2U; Cell Signaling Technology)로 염색한 후 유세포 분석에 의해 평가하였다.

[0214] HLA-C*03:04^{-} A375 및 SK-MEL-37 세포를 HLA-C*03:04과 함께 레트로바이러스로 형질도입하여 A375/C*03:04 및 SK-MEL-37/C*03:04 세포를 생성하였다. HLA-C*03:04 유전자를 상기 기재된 바와 같은 ΔNGFR 유전자로 태그하였고, ΔNGFR^{+} 세포를 정제하고(>95% 순도) 후속 실험에 사용하였다. ΔNGFR 유전자 단독을 대조군으로 레트로바이러스로 형질도입하였다.

[0215] *유세포 분석 및 세포 분류*

[0216] 세포 표면 분자를 PC5-접합된 항-CD8 mAb(클론 B9.11; Beckman Coulter), FITC-접합된 항-NGFR(클론 ME20.4; Biolegend), 및 APC/Cy7-접합된 항-CD3(클론 UCHT1; Biolegend)으로 염색하였다. 죽은 세포는 LIVE/DEAD 고정용 아쿠아 죽은 세포 염색 키트(Life Technologies)를 사용하여 구별하였다. 세포내 염색을 위해, 세포를 Cytofix/Cytoperm 키트(BD Biosciences)를 사용하여 고정 및 투과시켰다. 염색된 세포는 유세포 분석기(BD

Biosciences)로 분석하였고, 데이터 분석은 FlowJo(Tree Star)를 사용하여 수행하였다. 세포 분류는 FACS Aria II(BD Bioscience)를 사용하여 수행하였다.

[0217] *사이토카인 ELISPOT 분석*

[0218] IFN-γ ELISPOT 검정을 앞서 기술된 바와 같이(예를 들면, Kagoya 등, *Nat. Commun. 9*:1915 (2018); Anczurowski 등, *Sci. Rep. 8*:4804 (2018); 및 Yamashita 등, *Nat Commun. 8*:15244 (2017) 참조)수행하였다. PVDF 플레이트(Millipore, 매사추세츠주 베드포드 소재)를 포획 mAb(1-D1K; MABTECH, 오하이오주 마리몬트 소재)로 코팅하였고, T 세포를 37℃에서 20-24 시간 동안 펩티드의 존재 또는 부재 하에 웰 당 2 x 10^4 개 표적 세포로 인큐베이션하였다. 이후에 플레이트를 세척하고 비오틴-접합된 검출 mAb(7-B6-1; MABTECH)와 함께 인큐베이션하였다. 그런 다음, HRP-접합된 SA(Jackson ImmunoResearch)를 첨가하고, IFN-γ 스폿을 현상하였다. 차가운 수돗물로 철저하게 헹구어 반응을 중단시켰다. ELISPOT 플레이트를 ImmunoSpot 플레이트 판독기 및 ImmunoSpot 버전 5.0 소프트웨어(Cellular Technology Limited, 오하이오주 셰이커하이츠 소재)를 사용하여 스캐닝 및 계수하였다.

[0219] *클로닝된 TCR로 형질도입된 1차 $CD8^+$ T 세포의 확장*

[0220] $CD3^+$ T 세포를 Pan T 세포 단리 키트(Miltenyi Biotec)를 사용하여 음성 자기 선택을 통해 정제하였다. 정제된 T 세포를 20:1의 E:T 비에서 200 Gy로 조사된 인공 APC/mOKT3으로 자극하였다. 다음 날부터 시작하여, 활성화된 T 세포를 연속 3 일 동안 32℃에서 1,000 g로 1 시간 동안 원심분리를 통해 클로닝된 TCR 유전자로 레트로바이러스로 형질도입하였다. 다음 날에, 100 IU/ml IL-2 및 10 ng/ml IL-15를 TCR-형질도입된 T 세포에 첨가하였다. 배양 배지를 2-3 일마다 재보충하였다.

[0221] *포유류 세포-기반 pHLA 다량체의 생산*

[0222] 친화성-성숙 HLA 클래스 I 유전자를 α2 도메인의 위치 115에서 Gln(Q) 잔기 대신에 Glu(E) 잔기 및 HLA 클래스 I α3 도메인 대신 마우스 K^b 유전자-유래 α3 도메인을 보유하도록 조작하였다. 친화성-성숙 HLA 클래스 I 유전자의 세포외 도메인을 Gly-Ser(GS) 유연한 링커와 융합한 후 6x His 태그와 융합함으로써, 본 발명자들은 가용성 HLA 클래스 I^{Q115E}-K^b 유전자를 생성하였다. HEK293T 세포를 293GPG 세포-기반 레트로바이러스 시스템을 사용하여 β2m 유전자와 함께 다양한 가용성 HLA 클래스 I^{Q115E}-K^b 유전자로 개별적으로 형질도입하였다[43]. 가용성 친화성-성숙 클래스 I^{Q115E}-K^b를 이소성으로 발현하는 안정한 HEK293T 세포를 합류까지 성장시킨 다음, 배지를 교환하였다. 48 시간 후, 조건화 배지를 수확하고 즉시 사용하거나 또는 사용할 때까지 동결시켰다. HEK293T 형질감염체에 의해 생성된 가용성 HLA 클래스 I^{Q115E}-K^b-함유 상청액을 시험관내 펩티드 교환을 위해 37℃에서 밤새도록 100-1000 μg/ml의 관심 클래스 I-제한 펩티드와 배양하였다. 펩티드가 로딩된 가용성 단량체성 클래스 I^{Q115E}-K^b를 실온에서 2 시간 동안 또는 4℃에서 밤새도록 2:1 몰비로 피코에리트린(PE)과 같은 형광 색소에 접합된 항-His mAb(클론 AD1.1.10; Abcam)를 사용하여 이량체화하였다. 기능적 가용성 HLA 클래스 I^{Q115E}-K^b 분자의 농도를 각각 포획 및 검출 Ab로서 항-pan 클래스 I mAb(클론 W6/32, 내부용) 및 항-His 태그 비오티닐화 mAb(클론 AD1.1.10, R&D systems)를 사용하여 특이적 ELISA에 의해 측정하였다.

[0223] *pHLA 다량체 염색*

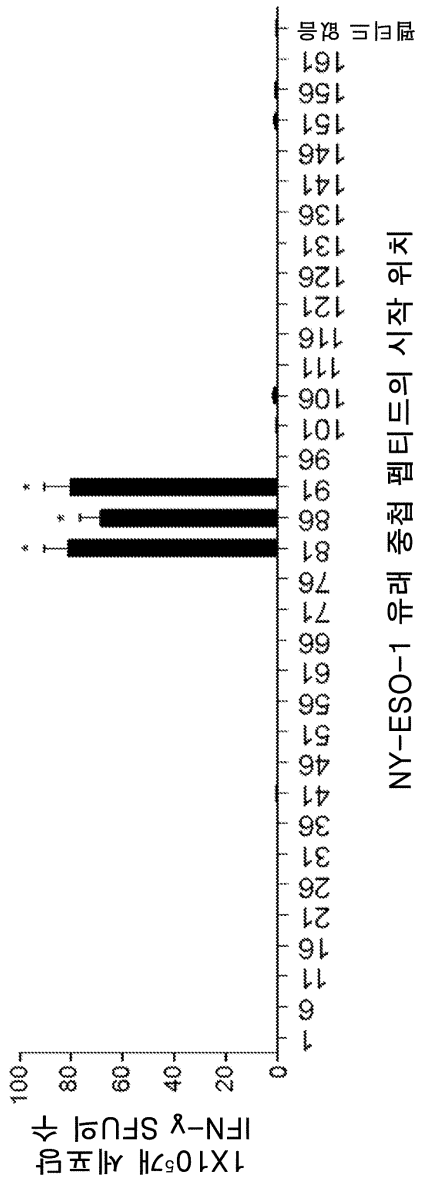
[0224] T 세포(1 x 10^5)를 50 nM 다사티닙(dasatinib)(LC laboratories)의 존재 하에 37℃에서 30 분 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음 세포를 세척하고 5-10 μg/ml의 다량체와 실온에서 30 분 동안 인큐베이션하고, R-피코에리트린-접합된 AffiniPure Fab 단편 염소 항-마우스 IgG1(Jackson ImmunoResearch Laboratories)을 4℃에서 15 분 동안 첨가하였다. 다음으로, 세포를 3 번 세척하고 항-CD8 mAb로 4℃에서 15 분 동안 공동염색하였다. 마지막으로 LIVE/DEAD 고정용 죽은 세포 염색 키트를 사용하여 죽은 세포를 구별하였다.

[0225] *통계 분석*

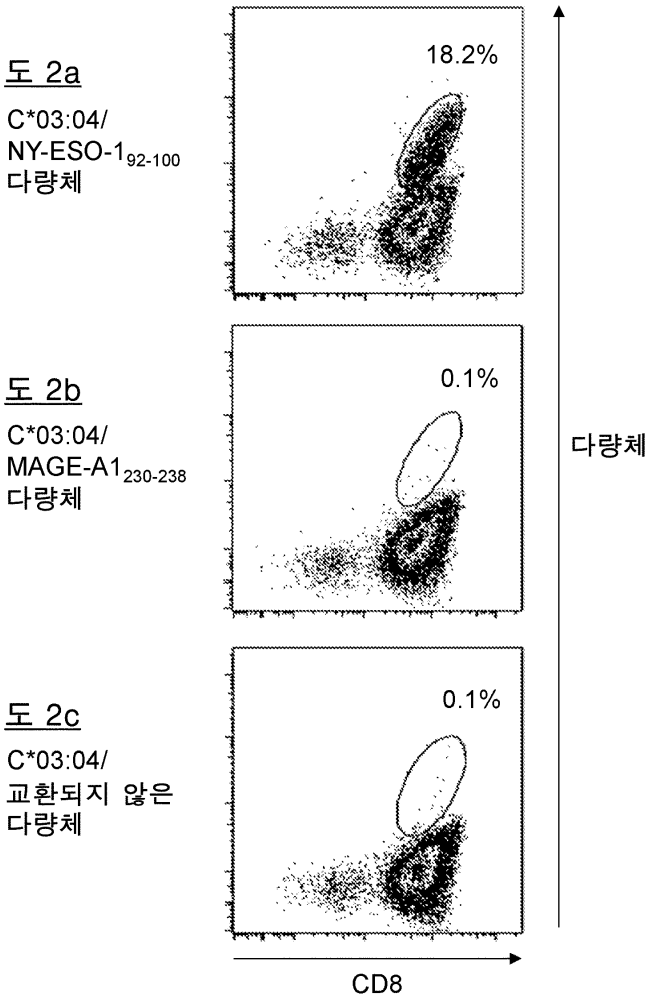
[0226] GraphPad Prism 5.0e를 사용하여 통계 분석을 수행하였다. 두 그룹이 주어진 변수에 대해 유의하게 상이하였는지를 결정하기 위해, 본 발명자들은 웰치(Welch)의 t 검정(양측)을 사용하여 분석을 수행하였다. P 값 < 0.05를 유의한 것으로 간주하였다.

도면

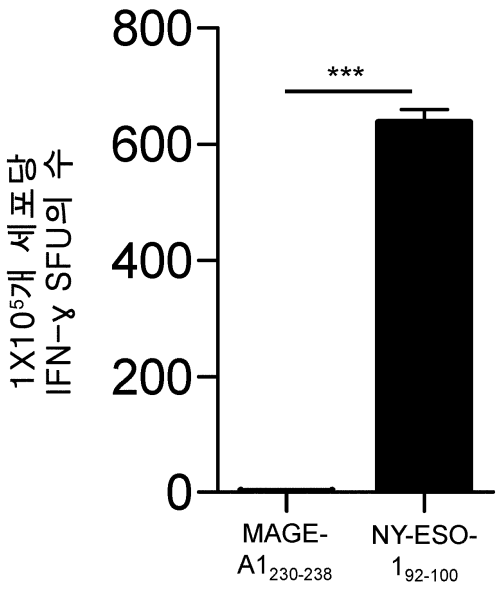
도면1


1X10⁵개 세포당
IFN-γ SFU의 수
0
20
40
60
80
100
NY-ESO-1 유래 중첩 펩티드의 시작 위치
펩티드 없음
1
6
11
16
21
26
31
36
41
46
51
56
61
66
71
76
81
86
91
96
101
106
111
116
121
126
131
136
141
146
151
156
161
*
*
*

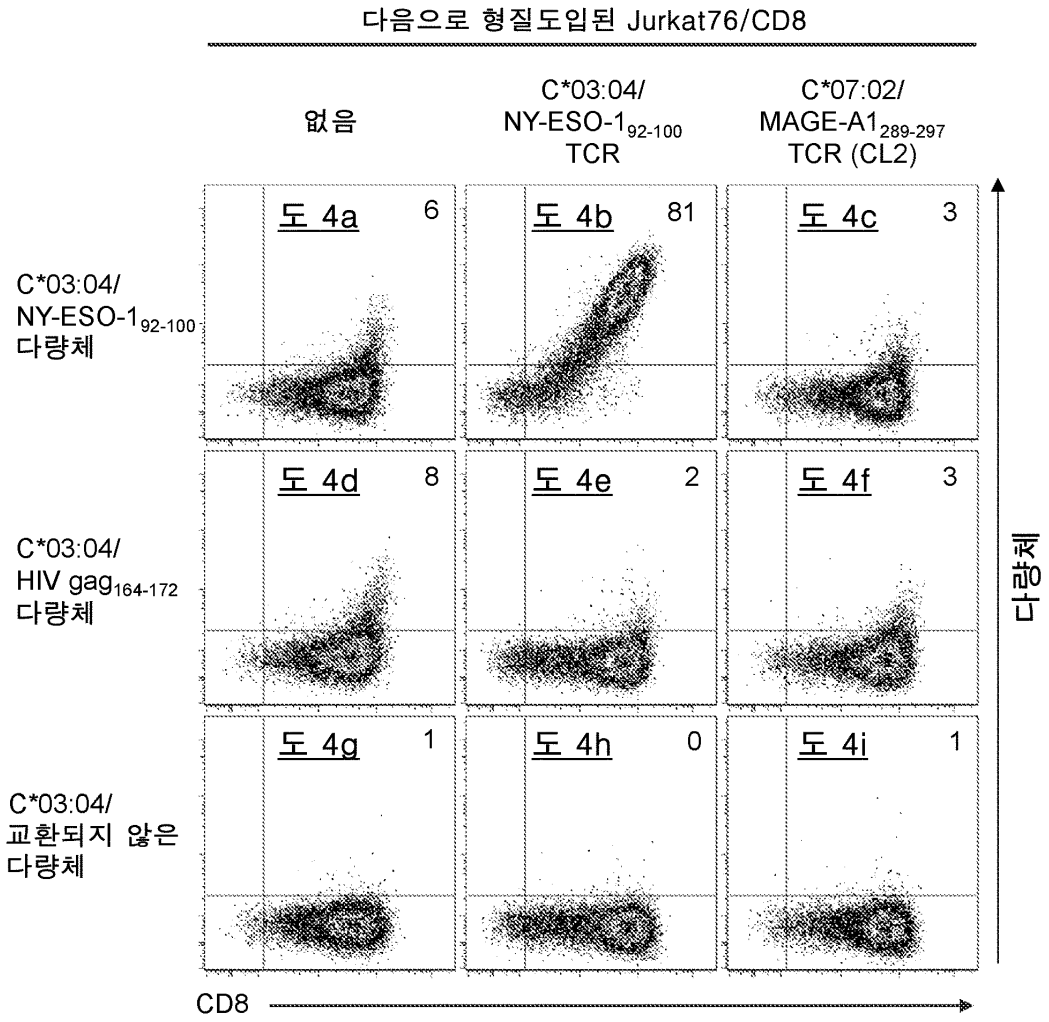
도면2


도 2a
C*03:04/
NY-ESO-1 92-100
다량체
18.2%
도 2b
C*03:04/
MAGE-A1 230-238
다량체
0.1%
다량체
도 2c
C*03:04/
교환되지 않은
다량체
0.1%
CD8

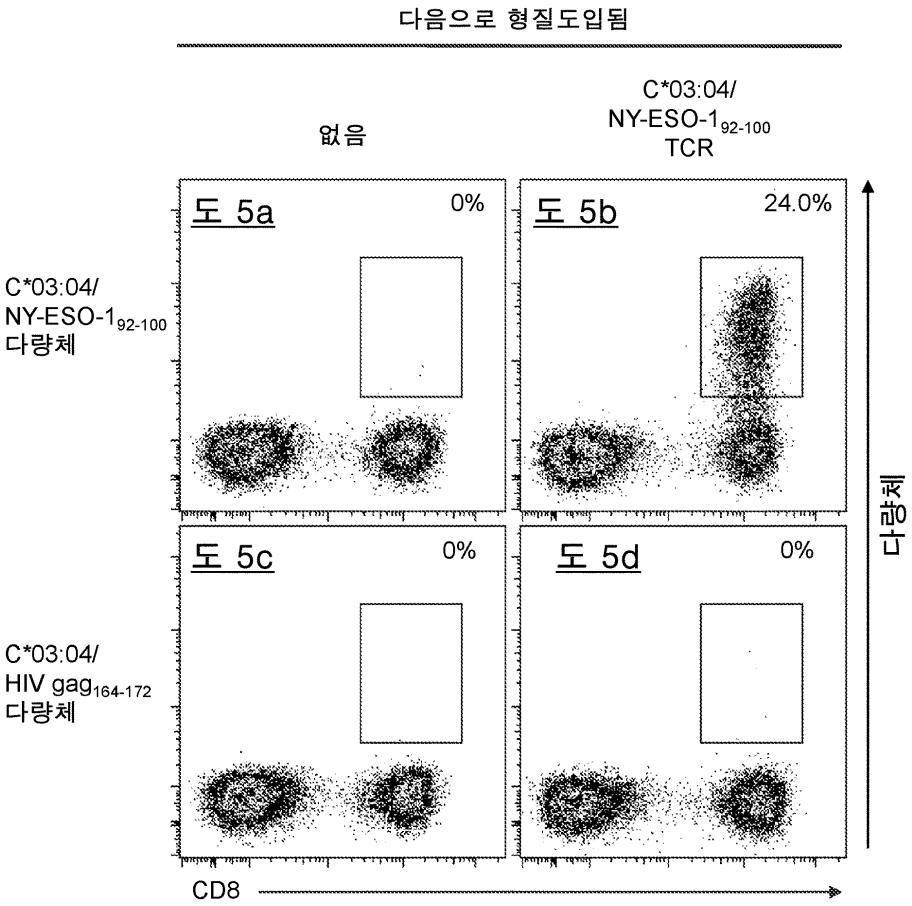
도면3


800
600
400
200
0
***
1X10⁵개 세포당 IFN-γ SFU의 수
MAGE-A1 230-238
NY-ESO-1 92-100

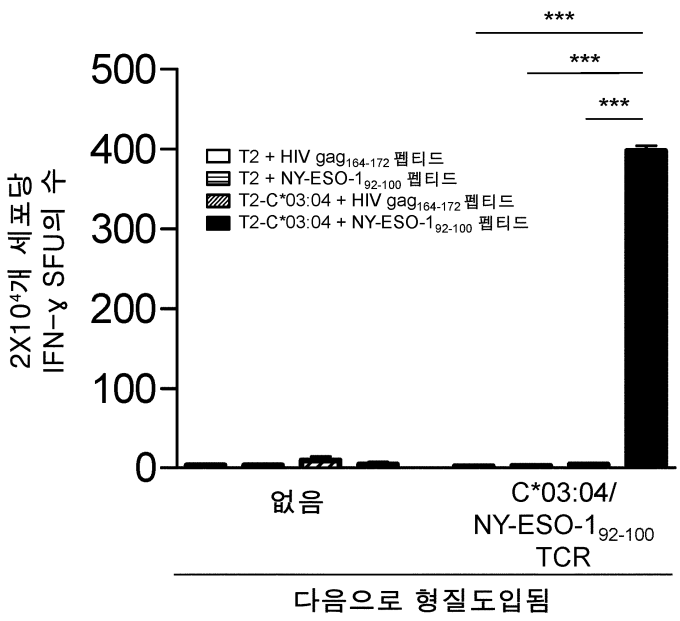
도면4


다음으로 형질도입된 Jurkat76/CD8
없음
C*03:04/ NY-ESO-1 92-100 TCR
C*07:02/ MAGE-A1 289-297 TCR (CL2)
C*03:04/ NY-ESO-1 92-100 다량체
C*03:04/ HIV gag 164-172 다량체
C*03:04/ 교환되지 않은 다량체
도 4a 6
도 4b 81
도 4c 3
도 4d 8
도 4e 2
도 4f 3
도 4g 1
도 4h 0
도 4i 1
다량체
CD8

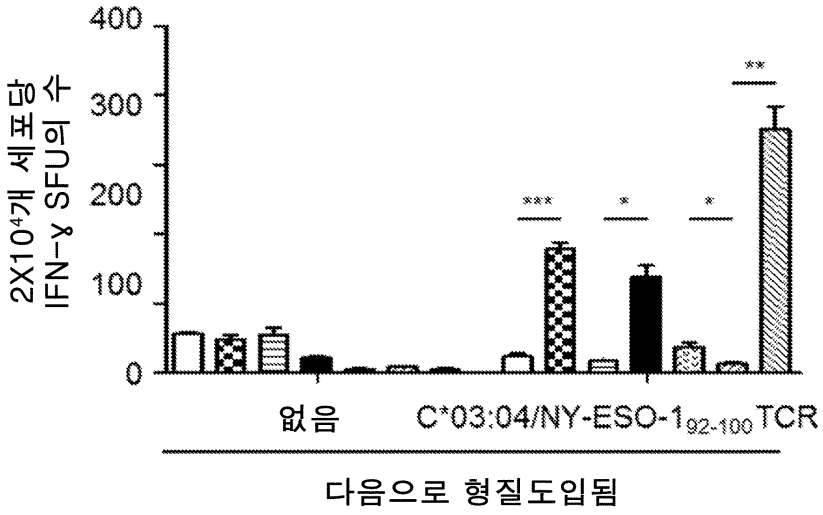
도면5


다음으로 형질도입됨
없음
C*03:04/
NY-ESO-1 92-100
TCR
도 5a
0%
도 5b
24.0%
도 5c
0%
도 5d
0%
C*03:04/
NY-ESO-1 92-100
다량체
C*03:04/
HIV gag 164-172
다량체
다량체
CD8

도면6


***
***
***
500
400
300
200
100
0
2X10⁴개 세포당 IFN-γ SFU의 수
T2 + HIV gag 164-172 펩티드
T2 + NY-ESO-1 92-100 펩티드
T2-C*03:04 + HIV gag 164-172 펩티드
T2-C*03:04 + NY-ESO-1 92-100 펩티드
없음
C*03:04/
NY-ESO-1 92-100
TCR
다음으로 형질도입됨

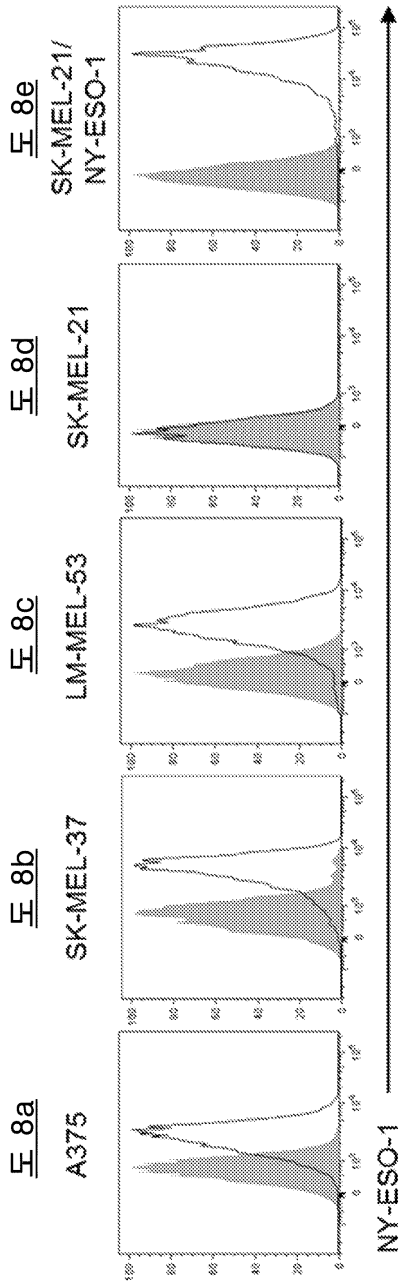
도면7a



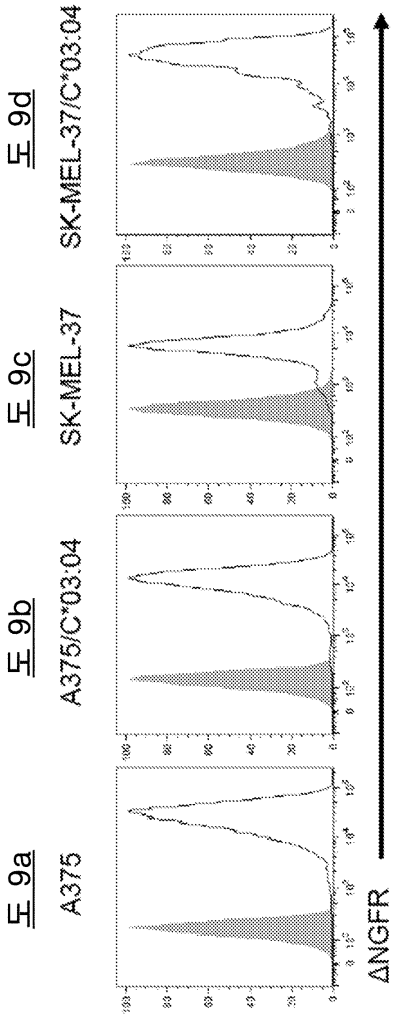
도면7b

	C*03:04	NY-ESO-1
A375	-	+
A375/C*03:04	+	+
SK-MEL-37	-	+
SK-MEL-37/C*03:04	+	+
LM-MEL-53	+	+
SK-MEL-21	+	-
SK-MEL-21/NY-ESO-1	+	+

도면8


도 8a
A375
도 8b
SK-MEL-37
도 8c
LM-MEL-53
도 8d
SK-MEL-21
도 8e
SK-MEL-21/
NY-ESO-1
NY-ESO-1

도면9



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> University Health Network

<120> T CELL RECEPTORS AND METHODS OF USE THEREOF

<130> 4285.001PC01/C-K/BMD

<150> US 62/813,639

<151> 2019-03-04

<160> 61

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 273

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> alpha chain amino acid sequence

<400> 1

Met Leu Leu Glu Leu Ile Pro Leu Leu Gly Ile His Phe Val Leu Arg
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ala Gln Ser Val Thr Gln Pro Asp Ile His Ile Thr Val

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

85 90 95
Lys Pro Ser Val His Trp Ser Asp Ala Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Gly
100 105 110
Met Asp Ser Asn Tyr Gln Leu Ile Trp Gly Ala Gly Thr Lys Leu Ile
115 120 125
Ile Lys Pro Asp Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg
130 135 140
Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp

145 150 155 160
Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr
165 170 175
Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser
180 185 190
Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe
195 200 205
Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser

210 215 220
Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn

225 230 235 240

Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu

245 250 255

Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

260 265 270

Glx

<210> 2

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> beta chain amino acid sequence

<400> 2

Met Ser Ile Gly Leu Leu Cys Cys Val Ala Phe Ser Leu Leu Trp Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Thr Gly Gln Ser Met Thr Leu Gln Cys Ala Gln Asp Met Asn His

35 40 45

Asn Ser Met Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Met Gly Leu Arg Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Gly Tyr Asn Val Ser Arg Leu Asn Lys Arg Glu Phe Ser Leu Arg

85 90 95

Leu Glu Ser Ala Ala Pro Ser Gln Thr Ser Val Tyr Phe Cys Ala Ser

100 105 110

Ser Leu Pro Leu Gly Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu

115 120 125

Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val

130 135 140

Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu

145 150 155 160

Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp

165 170 175

Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln

180 185 190

Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser

195 200 205

Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His

210 215 220

Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp

225 230 235 240

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

245 250 255

Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly

260 265 270

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

275 280 285

Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys

290 295 300

Arg Lys Asp Ser Arg Gly Glx

305 310

<210> 3

<400> 3

000

<210> 4

<400> 4

000

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> alpha CDR1

<400> 5

Tyr Gly Ala Thr Pro Tyr

1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> alpha CDR2

<400> 6

Tyr Phe Ser Gly Asp Thr Leu Val

1 5

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> alpha CDR3

<400> 7

Cys Ala Gly Met Asp Ser Asn Tyr Gln Leu Ile Trp

1 5 10

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> beta CDR1

<400> 8

Met Asn His Asn Ser

1 5

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> beta CDR2

<400> 9

Ser Ala Ser Glu Gly Thr

1 5

<210> 10

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> beta CDR3

<400> 10

Cys Ala Ser Ser Leu Pro Leu Gly Tyr Glu Gln Tyr Phe

1 5 10

<210> 11

<400> 11

000

<210> 12

<400> 12

000

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> epitope

<400> 13

Leu Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met

1 5

<210> 14

<400> 14

000

<210> 15

<400> 15

000

<210> 16

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> B2m amino acid sequence

<400> 16

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 17

<211> 819

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> alpha chain nucleotide sequence

<400> 17

atgctcctgg agcttatccc actgctgggg atacattttg tcctgagaac tgccagagcc 60

cagtcagtga cccagcctga catccacatc actgtctctg aaggagcctc actggagttg 120

agatgtaact attcctatgg ggcaacacct tatctcttct ggtatgtcca gtcccccggc 180

caaggcctcc agctgctcct gaagtacttt tcaggagaca ctctggttca aggcattaaa 240

ggctttgagg ctgaatttaa gaggagtcaa tcttccttca atctgaggaa accctctgtg 300

cattggagtg atgctgctga gtacttctgt gccggcatgg atagcaacta tcagttaatc 360

tggggcgctg ggaccaagct aattataaag ccagatatcc agaaccctga ccctgccgtg 420

taccagctga gagactctaa atccagtgac aagtctgtct gcctattcac cgattttgat 480

tctcaaacaa atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga caaaactgtg 540

ctagacatga ggtctatgga cttcaagagc aacagtgctg tggcctggag caacaaatct 600

gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaagacac cttcttcccc 660

agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac agatacgaac 720

ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa agtggccggg 780

tttaatctgc tcatgacgct gcggctgtgg tccagctga 819

<210> 18

<211> 933

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> beta chain nucleotide sequence

<400> 18

atgagcatcg ggctcctgtg ctgtgtggcc ttttctctcc tgtgggcaag tccagtgaat 60

gctggtgtca ctcagacccc aaaattccag gtcctgaaga caggacagag catgacactg 120

cagtgtgccc aggatatgaa ccataactcc atgtactggt atcgacaaga cccaggcatg 180

ggactgaggc tgatttatta ctcagcttct gagggtacca ctgacaaagg agaagtcccc 240

aatggctaca atgtctccag attaaacaaa cgggagttct cgctcaggct ggagtcggct 300

gctccctccc agacatctgt gtacttctgt gccagcagtc tccctctagg ctacgagcag 360

tacttcgggc cgggcaccag gctcacggtc acagaggacc tgaaaaacgt gttcccaccc 420

gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca gagatctccc acacccaaaa ggccacactg 480

gtgtgcctgg ccacaggctt ctaccccgac cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg 540

aaggaggtgc acagtggggt cagcacagac ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc 600

aatgactcca gatactgcct gagcagccgc ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac 660

ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg 720

acccaggata gggccaaacc tgtcacccag atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca 780

gactgtggct tcacctccga gtcttaccag caaggggtcc tgtctgccac catcctctat 840

gagatcttgc tagggaaggc caccttgtat gccgtgctgg tcagtgccct cgtgctgatg 900

gccatggtca agagaaagga ttccagaggc tag 933

<210> 19

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 19

Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp

1 5 10 15

Gly Pro Gly Gly

20

<210

> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 20

Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp Gly Pro Gly Gly Pro

1 5 10 15

Gly Ile Pro Asp

20

<210> 21

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 21

Ser Thr Gly Asp Ala Asp Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly

1 5 10 15

Pro Gly Gly Asn

20

<210> 22

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 22

Asp Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala

1 5 10 15

Gly Gly Pro Gly

20

<210> 23

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 23

Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly Gly Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ala Gly Ala Thr

20

<210> 24

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 24

Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly

1 5 10 15

Gly Arg Gly Pro

20

<210> 25

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 25

Ala Gly Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg

1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala

20

<210> 26

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 26

Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala Gly Ala Ala

1 5 10 15

Arg Ala Ser Gly

20

<210> 27

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 27

Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ala

20

<210> 28

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 28

Arg Gly Ala Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro

1 5 10 15

Arg Gly Pro His

20

<210> 29

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 29

Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro His Gly

1 5 10 15

Gly Ala Ala Ser

20

<210> 30

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 30

Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro His Gly Gly Ala Ala Ser Gly

1 5 10 15

Leu Asn Gly Cys

20

<210> 31

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 31

Pro Arg Gly Pro His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys

1 5 10 15

Arg Cys Gly Ala

20

<210> 32

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 32

Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala Arg

1 5 10 15

Gly Pro Glu Ser

20

<210> 33

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 33

Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala Arg Gly Pro Glu Ser Arg

1 5 10 15

Leu Leu Glu Phe

20

<210> 34

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 34

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

1 5 10 15

Leu Ala Met Pro

20

<210> 35

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 35

Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe

1 5 10 15

Ala Thr Pro Met

20

<210> 36

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 36

Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met Glu

1 5 10 15

Ala Glu Leu Ala

20

<210> 37

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 37

Tyr Leu Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg

1 5 10 15

Arg Ser Leu Ala

20

<210> 38

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 38

Phe Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln

1 5 10 15

Asp Ala Pro Pro

20

<210> 39

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 39

Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp Ala Pro Pro Leu

1 5 10 15

Pro Val Pro Gly

20

<210> 40

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 40

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

1 5 10 15

Leu Leu Lys Glu

20

<210> 41

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 41

Gln Asp Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe

1 5 10 15

Thr Val Ser Gly

20

<210> 42

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 42

Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val Ser Gly Asn

1 5 10 15

Ile Leu Thr Ile

20

<210> 43

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 43

Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg

1 5 10 15

Leu Thr Ala Ala

20

<210> 44

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 44

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

1 5 10 15

His Arg Gln Leu

20

<210> 45

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 45

Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln Leu Gln

1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser

20

<210> 46

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 46

Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser

1 5 10 15

Cys Leu Gln Gln

20

<210> 47

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 47

Asp His Arg Gln Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu

1 5 10 15

Ser Leu Leu Met

20

<210> 48

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 48

Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp

1 5 10 15

Ile Thr Gln Cys

20

<210> 49

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 49

Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe
1 5 10 15

Leu Pro Val Phe
20

<210> 50

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 50

Leu Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu
1 5 10 15

Ala Gln Pro Pro
20

<210> 51

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic Peptide

<400> 51

Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser
1 5 10 15

Gly Gln Arg Arg
20

<210> 52

<211> 180

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> NY-ESO-1 Amino Acid Sequence

<400> 52

Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp

1 5 10 15

Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly

20 25 30

Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala

35 40 45

Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro

50 55 60

His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala

65 70 75 80

Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe

85 90 95

Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp

100 105 110

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

115 120 125

Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln

130 135 140

Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met

145 150 155 160

Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser

165 170 175

Gly Gln Arg Arg

180

<210> 53

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> siRNA-TCRa-1

<400> 53

guaaggauuc ugauguguat t 21

<210> 54

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> siRNA-TCRa-2

<400> 54

uacacaucag aauccuuact t 21

<210> 55

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> siRNA-TCRb-1

<400> 55

ccaccauccu cuaugagaut t 21

<210> 56

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> siRNA-TCRb-2

<400> 56

aucucauaga ggaugguggt t 21

<210> 57

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 3-TCR alpha untranslated region primer

<400> 57

ggagagttcc ctctgtttgg agag 24

<210> 58

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> modified 5'-RACE primer

<400> 58

gtgtggtggt acgggaattc aagcagtggt atcaacgcag agt 43

<210> 59

<211> 43

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> 3'-TCR-a primer

<400> 59

accactgtgc tggcggccgc tcagctggac cacagccgca gcg 43

<210> 60

<211> 56

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Beta C region-specific reverse primer 3-C Beta-1

<400> 60

atcgtcgacc actgtgctgg cggccgctcg agttccaggg ctgccttcag aaatcc 56

<210> 61

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Beta C region-specific reverse primer 3-C Beta-2

<400> 61

gaccactgtg ctggcggccg ctcgagctag cctctggaat cctttctctt gaccattgc 59