



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0004510
(43) 공개일자 2023년01월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/725 (2006.01) A61K 35/17 (2015.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/7051 (2013.01)
A61K 35/17 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7036234
(22) 출원일자(국제) 2021년03월19일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년10월18일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2021/057132
(87) 국제공개번호 WO 2021/186056
국제공개일자 2021년09월23일
(30) 우선권주장
20305298.0 2020년03월20일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
인셈(인스티튜트 내셔널 드 라 쎄테 에 드 라 리
세르세메디칼르)
프랑스, 75654 파리 세텍스 13, 101 퀴 드 톨비아
크
낭트 유니베르시테
프랑스 에프-44000 낭트 게 드 푸르빌 1
(72) 발명자
기요노 캐롤
프랑스, 44118 라 세브롤리에르, 22 퀴 뒤 마레
아네펀 이그나시오
프랑스, 44000 낭트, 2에이 퀴 뒤 멘느
(74) 대리인
특허법인한얼

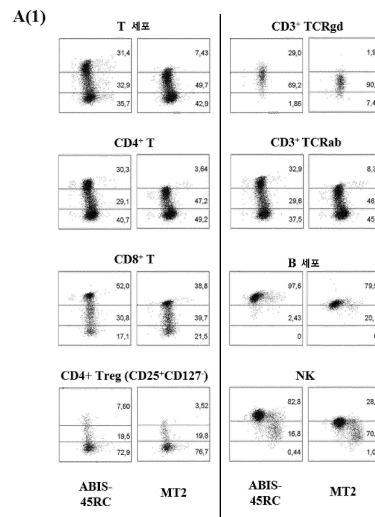
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 인간 CD45RC에 특이적인 키메라 항원 수용체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 면역요법 분야에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 인간 CD45RC에 특이적인 키메라 항원 수용체(CAR), 상기 CAR을 발현하는 면역 세포 및 특히, CD45RC^{hi}-관련 질환(자가 면역 질환, 원하지 않은 면역 반응, 단일유전자 질환, 림프종 또는 암 포함), 또는 이식편-대-숙주 질환(GVHD)을 예방하거나 치료하기 위한 의약으로서의 이의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 39/0011 (2021.08)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

C07K 16/289 (2013.01)

A61K 2039/5156 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2319/02 (2013.01)

C07K 2319/03 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

인간 CD45RC에 특이적인 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor; CAR)로서, 상기 CAR이

- (a) 적어도 하나의 세포외 결합 도메인(extracellular binding domain)으로서, 상기 결합 도메인이 상기 인간 CD45RC에 결합하는, 적어도 하나의 세포외 결합 도메인,
- (b) 임의로 적어도 하나의 세포외 힌지(hinge) 도메인,
- (c) 적어도 하나의 막관통 도메인(transmembrane domain), 및
- (d) 적어도 하나의 세포내 신호전달(signaling) 도메인으로서, 상기 세포내 도메인이 적어도 하나의 T 세포 1차 신호전달 도메인 및 임의로 적어도 하나의 T 세포 공동자극(costimulatory) 신호전달 도메인을 포함하는, 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 키메라 항원 수용체(CAR).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 세포외 결합 도메인이 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함하는, CAR:

- (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:

- (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;

- (ii) 서열번호 4, 5, 6, 8, 100, 116, 117, 118 및 119의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및

- (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및

- (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:

- (i) 서열번호 15(SASSSVS- X_{12} -YMH) 및 18(RASSSVS- X_{12} -YMH)의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이거나, Asn(N), Ser(S) 및 Gly(G)로부터 선택된다);

- (ii) 서열번호 16, 111 및 120의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR2; 및

- (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 세포외 결합 도메인이 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함하는, CAR:

- (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:

- (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;

- (ii) 서열번호 4 및 5의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및

- (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및

- (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:

- (i) 서열번호 15의 서열의 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);

- (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 결합 도메인이 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함하는, CAR:

- (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
 - (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
 - (ii) 서열번호 4의 V_H -CDR2; 및
 - (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
 - (i) 서열번호 15의 서열의 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);
 - (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
 - (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 결합 도메인이 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함하는, CAR:

- (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
 - (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
 - (ii) 서열번호 4, 6 및 100의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및
 - (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
 - (i) 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);
 - (ii) 서열번호 16, 111 및 120의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR2; 및
 - (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 결합 도메인이 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함하는, CAR:

- 1) 서열번호 61의 서열의 HCVR 및 서열번호 81의 서열의 LCVR;
- 2) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- 3) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;
- 4) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;
- 5) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- 6) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;

- 7) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;
- 8) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- 9) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;
- 10) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;
- 11) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 12) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR;
- 13) 서열번호 65의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 14) 서열번호 65의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR;
- 15) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 16) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- 17) 서열번호 121의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 18) 서열번호 122의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 19) 서열번호 123의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 20) 서열번호 124의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 21) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 22) 서열번호 67의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- 23) 서열번호 67의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR;
- 24) 서열번호 61의 서열의 HCVR 및 서열번호 113의 서열의 LCVR;
- 25) 서열번호 61의 서열의 HCVR 및 서열번호 126의 서열의 LCVR; 또는
- 26) 상기 항목 1) 내지 23)에 따르는 HCVR 및 LCVR의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%의 동일성(identity)을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 결합 도메인이 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함하고;

(a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:

(i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;

(ii) 서열번호 4, 5, 6, 8, 100, 116, 117, 118 및 119의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및

(iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및

(b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:

(i) 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR1(여기서, 서열번호 15 및 18에서 X_{12} 는 Asn(N), Ser(S) 및 Gly(G)로부터 선택된다);

(ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및

(iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3;

바람직하게는, 상기 LCVR의 카바트 위치(Kabat position) L71에서 상기 아미노산 잔기가 Phe(F)인, CAR.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 바람직하게는 서열번호 61의 서열을 갖는 HCVR 및 서열번호 81의 서열을 갖는 LCVR을 포함하며, 바람직하게는 서열번호 134의 서열을 갖는 링커(linker)에 의해 연결된 항-인간 CD45RC scFv,
- (ii) 바람직하게는 서열번호 145의 서열을 갖는, CD8 α로부터 유래된 힌지 도메인,
- (iii) 바람직하게는 서열번호 153의 서열을 갖는, 인간 CD8 α 막관통 도메인, 및
- (iv) 바람직하게는 서열번호 167의 서열을 갖는, 인간 CD28 신호전달 도메인, 및 바람직하게는 서열번호 157의 서열을 갖는, 인간 CD3 제타 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, CAR.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따르는 CAR을 인코딩(encoding)하는 핵산.

청구항 10

제9항에 따르는 핵산을 포함하는 발현 벡터(expression vector).

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따르는 CAR을 세포 표면에서 발현하도록 조작된 면역 세포 집단(immune cell population).

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 면역 세포 집단이 조절 T 세포 집단이고, 바람직하게는 상기 조절 T 세포 집단이 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg, Tr1 세포, TGF-β 분비 Th3 세포, 조절 NKT 세포, 조절 $\gamma\delta$ T 세포, 조절 $CD8^+$ T 세포, 및 이중 음성 조절 T 세포로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 면역 세포 집단.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따르는 CAR을 세포 표면에서 발현하도록 조작된 적어도 하나의 면역 세포 집단을 포함하는 조성물로서, 상기 조성물이 바람직하게는 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 추가로 포함하는 약제학적 조성물인, 조성물.

청구항 14

제11항 또는 제12항에 있어서, 또는 제13항에 있어서, 의약으로 사용하기 위한, 면역 세포 집단, 또는 약제학적 조성물.

청구항 15

제11항 또는 제12항에 있어서, 또는 제13항에 있어서, 이를 필요로 하는 대상체(subject)에서 면역 내성(immune tolerance)을 유도하거나, 이식 거부(transplant rejection)를 예방하거나 감소시키거나 또는 이식편-대-숙주 질환(graft-versus-host disease; GVHD)을 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한, 또는 자가 면역 질환(autoimmune diseases), 원하지 않은 면역 반응, 단일유전자 질환(monogenic diseases), 림프종(lymphoma) 및 암(cancer)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 CD45RC^{hi}-관련 상태를 예방, 감소 및/또는 치료하는 데 사용하기 위한, 면역 세포 집단, 또는 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 면역요법 분야에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 인간 CD45RC에 특이적인 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor; CAR), 상기 CAR을 발현하는 T 세포 및 특히, CD45RC^{hi}-관련 질환(자가 면역 질환

[0001]

(autoimmune diseases), 원하지 않은 면역 반응, 단일유전자 질환(monogenic diseases), 림프종(lymphoma) 또는 암(cancer) 포함), 또는 이식편-대-숙주 질환(GVHD)을 예방하거나 치료하기 위한 의약으로서의 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] CD45(백혈구 공통 항원(LCA), EC3.1.3.48, T200, Ly5 및 PTPRC로서 공지되기도 함)는 제1 및 원형 수용체 유사 단백질 티로신 포스파타제(RTP)를 구성한다. 이의 발현은 모든 유핵 조혈 세포에 제한되고, 여기서 그것은 세포 표면의 거의 10%를 구성하는 가장 풍부한 세포 표면 당단백질 중 하나이고, 원형질 막에 약 25 μ M로 존재하는 것으로 추정된다(참조: Trowbridge & Thomas, 1994. *Annu Rev Immunol.* 12:85-116; Hermiston *et al.*, 2003. *Annu Rev Immunol.* 21:107-37; Holmes, 2006. *Immunology.* 117(2):145-55).
- [0003] CD45는 세포의 도메인, 단일 막관통 도메인(transmembrane domain) 및 큰 세포질 도메인을 포함한다. 막관통 및 세포질 도메인은 중 중에서 매우 보존된다. 특히, CD45의 세포질 도메인은 2개의 탠덤 복제된 포스파타제 도메인을 포함하고, 이중 막 근위 도메인만이 효소 활성을 갖는다(참조: Desai *et al.*, 1994. *EMBO J.* 13(17):4002-10). CD45에서 더 많은 C-말단의 제2 포스파타제 도메인의 기능은 그것이 제1 도메인을 안정화시킴으로써 간접적으로 CD45 활성화에 기여할 수 있음을 시사하지만, 불확실하게 잔류한다. 이 세포질 도메인을 통해, CD45는 티로신 단백질 키나제의 Src 계열(예: T 세포에서 Lck; 또는 B 세포에서 Lyn, Fyn 및 Lck)의 활성을 조절함으로써 조혈 세포에서 포스포티로신 수준의 중심 조절자로 기능한다(참조: Palacios & Weiss, 2004. *Oncogene.* 23(48):7990-8000; Lowell, 2004. *Mol Immunol.* 41(6-7):631-43).
- [0004] 막관통 및 세포질 도메인과는 대조적으로, CD45의 세포의 도메인은 상이한 백혈구 계통 중 더 높은 다형성을 나타낸다. 사실상, 이 세포의 도메인은 아주 많이 글리코실화되고, 모두 O-연결 글리코실화되고 시알릴화된 3개의 대안적으로 스플라이싱된 엑손(4, 5 및 6 - 이는 각각 A, B 및 C 결정인자를 인코딩(encoding)한다)을 함유한다(참조: Hermiston *et al.*, 2003. *Annu Rev Immunol.* 21:107-37; Holmes, 2006. *Immunology.* 117(2):145-55). 따라서, 크기, 형상 및 전하가 상이한 CD45 이소폼은 백혈구 분화 및 세포 활성화 모두에서 동적으로 제어된 대안적인 스플라이싱에 의해 생성되어 분자의 세포의 도메인의 변화를 유도할 수 있다(참조: Hall *et al.*, 1988. *J Immunol.* 141(8):2781-7; Lynch, 2004. *Nat Rev Immunol.* 4(12):931-40).
- [0005] 3개의 대안적으로 스플라이싱된 엑손을 모두 함유하는 가장 큰 CD45 이소폼인 CD45RABC는 약 235kDa인 반면, 3개의 엑손 모두가 결여된 최소 이소폼인 CD45R0는 약 180kDa이다. 중간에, 3개의 엑손 중 2개만(예: CD45RAB, CD45RBC) 또는 하나만(예: CD45RB)을 포함하는 이소폼이 가능하다.
- [0006] 상이한 CD45 이소폼의 기능은 명확하지 않지만, 이러한 이소폼의 차별적 발현은 T 세포의 활성화 수준과 관련되고, 나이브 대 기억 T 세포의 해리를 허용한다(참조: Birkeland *et al.*, 1989. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 86(17):6734-8). 예를 들어, CD45RA는 주변 나이브 성숙 CD4⁺ T 세포 상에 존재하고, CD45R0는 활성화된 및 기억 CD4⁺ T 세포 상에서 발현된다. CD45RABC는 B 세포 및 수지상 세포 및 다른 항원 제시 세포의 하위 그룹 상의 그들의 전구체 상에서 발현된다. 말단 분화된 기억 T 세포의 아형인 이펙터 기억 RA T 세포(T_{EMRA})는 또한 나이브 T 세포 마커 CD45RA를 재발현시킨다(참조: Koch *et al.*, 2008. *Immun Ageing.* 5:6). 중요하게, 이 패턴의 이소폼 발현은 기능적 역할과 중요성을 강조하는 중 전반에 걸쳐 고도로 보존된다(참조: Hermiston *et al.*, 2003. *Annu Rev Immunol.* 21:107-37).
- [0007] CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포 상의 CD45RC 이소폼의 특정 발현 패턴은 증식 및 사이토카인 분비의 관점에서 상이하게 거동하는 기능적으로 뚜렷한 동종 반응성 T 세포 서브세트를 구별할 수 있게 한다. 예를 들어, 설치류에서, CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포 CD45RC^고 모두가 이식 거부(transplant rejection) 및 기관 염증을 촉진할 수 있는 강력한 T_H1 이펙터 세포인(참조: Spickett *et al.*, 1983. *J Exp Med.* 158(3):795-810; Xystrakis *et al.*, 2004. *Eur J Immunol.* 34(2):408-17) 반면, 감지할 수 없거나 낮은 수준의 CD45RC를 발현하는 T 세포는 T_H2 및 조절성 T 세포이고, 동종 이식 거부, 이식편-대-숙주 질환(GVHD) 및 세포 매개 자가 면역 질환을 억제한다(참조: Xystrakis *et al.*, 2004. *Blood.* 104(10):3294-30; Guillonnet *et al.*, 2007. *J Clin Invest.* 117(4):1096-106; Powrie & Mason, 1990. *J Exp Med.* 172(6):1701-8) 것이 제시되었다. 인간에서, 이식 전 CD45RC⁺ CD8⁺ T 세포의 높은 비율은 신장 이식 환자에서 이식편 생존을 감소와 상관 관계가 있다(참조: Ordonez *et al.*, 2013. *PLoS One.*

8(7):e69791).

- [0008] 따라서, CD45RC^{hi} T 세포 집단의 제거는 인간에서 면역 내성(immune tolerance)을 유도하고, 따라서 이식 거부(특히 GVHD) 및 자가 면역 질환을 예방하고, 감소시키고/시키거나 치료하기 위한 유망한 접근법을 나타낸다.
- [0009] GVHD는 줄기 세포 이식 환자에서 이환율 및 사망률의 중요한 원인이다. 그것은 공여자 세포가 수여자 세포에 대해 반응하는 T 세포 매개 면역 반응성 공정이다. 현재, 코르티코스테로이드와 같은 면역 조절 약물에 의한 면역 억제는 GVHD 예방의 주류이다. 진전이 경시적으로 생존 결과의 개선에 의해 이루어졌지만, 코르티코스테로이드는 높은 비율의 환자(초기 질환 중증도에 따라 급성 GVHD 환자의 50% 미만 및 만성 GVHD 환자의 40-50% - Garnett *et al.*, 2013. *Ther Adv Hematol.* 4(6):366-378)에서 GVHD를 예방하지 않고, 중요한 독성과 관련이 있으며, 현재 이용 가능한 많은 구제 요법은 증가된 면역 억제 및 전염성 합병증과 연관된다. 따라서, 장기간 이식 후 결과를 개선시키기 위해 GVHD에 대한 새로운 치료 전략의 개발에 대한 충족되지 않은 필요성이 잔류한다.
- [0010] 본 발명자들은 이전에 CD45RC^{hi} T 세포의 고갈이 관용원성 조절 T 세포를 증가시키면서 공격적인 이펙터 T 세포를 감소시킴으로써 이식 거부를 예방하거나 감소시키는 데 있어서 가능한 새로운 요법을 나타낼 수 있다고 기재했다. 사실상, 일시적인 항-CD45RC mAb 치료는 기억 면역을 보존하면서 빠른 CD45RC^{hi} T 세포 아포토시스를 유발한다. 더욱이, 본 발명자들은 단기간 항-CD45RC 항체 치료가 만성 거부의 징후가 없는 영구적 동종 이식편 생존을 초래한다는 것을 보여주었다(참조: 국제 특허 W02016016442; Picarda *et al.*, 2017. *JCI Insight.* 2(3):e90088).
- [0011] 여기서, 본 발명자들은 인간 CD45RC에 대해 지시된 항원 결합 단편을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 개발했다. 이 항원 결합 단편은 현재 시장에서 이용 가능한 항-인간 CD45RC 항체(예: MT2 클론)와 경쟁하지만, T 세포에 대한 현저하게 더 좋은 세포 독성 활성과 최저 농도에서 필적할 만한 반응성 패턴을 나타낸다. 사실상, 본 발명에 따르는 항-hCD45RC 항원 결합 단편은 현재 이용 가능한 다른 항원 결합 단편보다 우수한 친화도를 나타내고, 이로 인해 더 우수한 치료 효과를 갖는다.
- [0012] 흥미롭게도, 본 발명에 따르는 CAR은 또한 면역 반응이 병리학에 포함되는 특성의 단일유전자 질환의 예방 또는 치료에 유용할 수 있다. 단일유전자 질환은 단일 유전자 결함으로 인한 것이다. 4000 이상의 인간 질환은 하나의 특정 유전자에 연결된 이러한 결함으로 인한 것이다. 지금까지, 대부분의 치료 옵션은 환자의 삶의 질을 향상시키기 위한 시도에서, 장애의 증상을 치료하는 것을 중심으로 다룬다. 유전자 요법은 이러한 유형의 질환의 내구성 치료에 대한 주요 희망이다. 그러나, 장애뿐만 아니라 유전자 도입 생성물 또는 벡터에 대한 면역 반응이 치료 효능을 제한한다는 사실에 의해 영향을 받은 적절한 세포에 유전자를 전달하기 위한 기술의 개발 동안 주요 장애물이 발생했다.
- [0013] 단일유전자 질환 중, 일부는 면역계에 포함된 유전자(예: T 및/또는 B 세포 원발성 면역결핍 및 다내분비병증 칸디다증-외배엽 이영양증(polyendocrinopathy candidiasis-ectodermal dystrophy[APECED]) 또는 면역 기능에 연관되지 않지만 이의 결핍이 염증 및/또는 면역 반응[예: 듀센형 근이영양증(Duchenne muscular dystrophy; DMD)]과 연관되는 유전자에 연결된다.
- [0014] 자기 면역 다선 증후군 유형 I(APSS 1)로서 공지되기도 한 APECED는 수질 상피 흉선 세포(mTEC)에서 조직 제한 항원(TRA)의 발현 및 자동 반응성 T 세포 결실을 허용하는 전사 조절제인 AIRE 유전자의 돌연변이에 의해 야기되는 희귀한 다기관 상염색체 열성 자가 면역 질환이다. 인간에서, 1-9:1000000의 유병률(Orphanet, <http://www.orpha.net>)을 갖는 APECED를 유발하는 AIRE 유전자에서 100개 이상의 돌연변이가 기재되었다. APECED의 임상적 표현형은 일반적으로 3개의 주요 증상인 부갑상선 기능 저하증(hypoparathyroidism), 부신기능 부전(adrenal insufficiency)(애디슨병(Addison's disease)) 및 만성 점막 피부 칸디다증(chronical mucocutaneous candidiasis; CMC) 중 2개의 존재에 의해 정의된다. 이 질환은 또한 다수의 자가 면역 및 외배엽 특징, 예를 들어, 유형 1 당뇨병(type 1 diabetes), 법랑질 발육부전(enamel hypoplasia), 백반증(vitiligo), 조기 난소 부전(premature ovarian failure), 각막염(keratitis), 악성 빈혈(pernicious anemia), 탈모증(alopecia), 외분비성 췌장염(exocrine pancreatitis), 간질성 폐 질환(interstitial lung disease), 신염(nephritis) 및 다른 장애와 연관된다.
- [0015] DMD는 단일유전자 질환이고, 여기서 단백질 디스트로핀을 코딩하는 DMD 유전자의 돌연변이는 후기 단계에서 모든 자발적 근육 뿐만 아니라 심장 및 호흡근에 영향을 미치는 심각한 X-연결된 근이영양증을 유도한다. 면역 반응은 DMD 환자와 mdx 마우스 모두에서 질환의 병리 생리학에 관여한다(검토를 위해, 문헌(Rosenberg *et al.*,

2015. *Sci Transl Med*. **7(299)**:299rv4)을 참조). DMD의 표준 치료는 코르티코이드, 예를 들어, 프레드니솔론이다. mdx 마우스에서, 이펙터 면역 반응 또는 염증을 감소시키는 치료, 예를 들어, 정맥내 면역글로블린, 트라닐라스트, 헵 옥시게나제-1 유도제, IL-1 수용체 길항제 및 IL-2를 또한 사용하여 조절성 T 세포(Treg)를 증폭시킨다(참조: Villalta *et al.*, 2014. *Sci Transl Med*. **6(258)**:258ra142; Rosenberg *et al.*, 2015. *Sci Transl Med*. **7(299)**:299rv4). 그러나, 최근의 유망한 새로운 치료에도 불구하고, DMD 환자의 평균 기대 수명은 여전히 심하게 감소된다.

[0016] 놀랍게도, 본 발명자들은 항-CD45RC 항체에 의한 $Dmd^{-/-}$ 래트(Dmd^{mdx})의 치료가 특이적으로 CD45RC^{hi} 세포 완화 근육 강도를 고갈시킨다는 것을 입증했다(참조: Ouisse *et al.*, 2019. *Front Immunol*. 9; 10:2131). 그들은 또한 Aire^{-/-} 래트에 항-CD45RC 모노클로날 항체의 투여가 CD45RC^{hi} T 세포의 강력한 고갈을 초래하고, APECED의 증상 특성을 제거한다(국제 특허 출원 WO2019115791)는 것을 입증했다.

[0017] 따라서, 본 발명에 따르는 CAR은 단일유전자 질환, 예를 들어, DMD 및 APECED를 예방하고/하거나 치료하기 위한 유망한 접근법을 나타낸다.

[0018] 본 발명자들은 또한 면역 세포가 그들의 세포 표면에서 형질도입된 CD45RC-CAR을 발현하도록 조작될 수 있음을 입증하였다. 본 발명자들은 또한 CD45RC-CAR로 형질도입된 세포가 인간 T 세포에서 아폽토시스를 유도하고, 인간 T 세포와 접촉한 후에 활성화될 수 있음을 보여주었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0019] 본 발명은 인간 CD45RC에 특이적인 키메라 항원 수용체(CAR)에 관한 것으로서, 여기서 상기 CAR은
- [0020] (a) 적어도 하나의 세포외 결합 도메인(extracellular binding domain)으로서, 상기 결합 도메인이 상기 인간 CD45RC에 결합하는, 적어도 하나의 세포외 결합 도메인,
- [0021] (b) 임의로 적어도 하나의 세포외 힌지(hinge) 도메인,
- [0022] (c) 적어도 하나의 막관통 도메인, 및
- [0023] (d) 적어도 하나의 세포내 신호전달(signaling) 도메인으로서, 상기 세포내 도메인이 적어도 하나의 T 세포 1차 신호전달 도메인 및 임의로 적어도 하나의 T 세포 공동자극(costimulatory) 신호전달 도메인을 포함하는, 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

과제의 해결 수단

- [0024] 하나의 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [0025] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0026] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H-CDR1;
- [0027] (ii) 서열번호 4, 5, 6, 8, 100, 116, 117, 118 및 119의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H-CDR2; 및
- [0028] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H-CDR3; 및
- [0029] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0030] (i) 서열번호 15(SASSSVS-X₁₂-YMH) 및 18(RASSSVS-X₁₂-YMH)의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L-CDR1(여기서, X₁₂는 부재이거나, Asn(N), Ser(S) 및 Gly(G)로부터 선택된다);
- [0031] (ii) 서열번호 16, 111 및 120의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L-CDR2; 및
- [0032] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L-CDR3.

- [0033] 하나의 구현예에서, 세포의 결합 도메인은 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [0034] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0035] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [0036] (ii) 서열번호 4 및 5의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및
- [0037] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [0038] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0039] (i) 서열번호 15의 서열의 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);
- [0040] (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [0041] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [0042] 하나의 구현예에서, 세포의 결합 도메인은 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [0043] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0044] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [0045] (ii) 서열번호 4의 V_H -CDR2; 및
- [0046] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [0047] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0048] (i) 서열번호 15의 서열의 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);
- [0049] (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [0050] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [0051] 하나의 구현예에서, 세포의 결합 도메인은 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [0052] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0053] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [0054] (ii) 서열번호 4, 6 및 100의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및
- [0055] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [0056] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0057] (i) 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);
- [0058] (ii) 서열번호 16, 111 및 120의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR2; 및
- [0059] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [0060] 하나의 구현예에서, 세포의 결합 도메인은 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [0061] 1) 서열번호 61의 서열의 HCVR 및 서열번호 81의 서열의 LCVR;

- [0062] 2) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- [0063] 3) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;
- [0064] 4) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;
- [0065] 5) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- [0066] 6) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;
- [0067] 7) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;
- [0068] 8) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- [0069] 9) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;
- [0070] 10) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;
- [0071] 11) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0072] 12) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR;
- [0073] 13) 서열번호 65의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0074] 14) 서열번호 65의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR;
- [0075] 15) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0076] 16) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- [0077] 17) 서열번호 121의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0078] 18) 서열번호 122의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0079] 19) 서열번호 123의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0080] 20) 서열번호 124의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0081] 21) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0082] 22) 서열번호 67의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [0083] 23) 서열번호 67의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR;
- [0084] 24) 서열번호 61의 서열의 HCVR 및 서열번호 113의 서열의 LCVR;
- [0085] 25) 서열번호 61의 서열의 HCVR 및 서열번호 126의 서열의 LCVR; 또는
- [0086] 26) 상기 항목 1) 내지 23)에 따르는 HCVR 및 LCVR의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%의 동일성(identity)을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR.
- [0087] 하나의 구현예에서, 세포의 결합 도메인은 다음을 포함하는 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함하고:
- [0088] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0089] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [0090] (ii) 서열번호 4, 5, 6, 8, 100, 116, 117, 118 및 119의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및
- [0091] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [0092] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0093] (i) 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR1(여기서, 서열번호 15 및 18에서 X_{12} 는 Asn(N), Ser(S) 및 Gly(G)로부터 선택된다);

- [0094] (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [0095] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3;
- [0096] 바람직하게는, 상기 LCVR의 카바트 위치(Kabat position) L71에서 아미노산 잔기는 Phe(F)이다.
- [0097] 하나의 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 인간 CD45RC에 대해 지시된 scFv 단편을 포함한다.
- [0098] 하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 바람직하게는 서열번호 145의 서열을 갖거나 그에 대해 적어도 70% 동일성을 갖는 서열을 갖는 인간 CD8 α 의 힌지 영역이다.
- [0099] 하나의 구현예에서, 막관통 도메인은 바람직하게는 서열번호 153의 서열을 갖거나 그에 대해 적어도 70% 동일성을 갖는 서열을 갖는 인간 CD8 α 로부터 유래된 막관통 도메인이다.
- [0100] 하나의 구현예에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 바람직하게는 서열번호 157의 서열을 갖거나 그에 대해 적어도 70% 동일성을 갖는 서열을 갖는 인간 CD3 제타의 T 세포 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0101] 하나의 구현예에서, 공동자극 신호전달 도메인은 CD28 세포질 신호전달 도메인, 4-1BB 세포질 신호전달 도메인, OX40 세포질 신호전달 도메인, ICOS 세포질 신호전달 도메인, CD27 세포질 신호전달 도메인 및 DAP10 세포질 신호전달 도메인으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0102] 하나의 구현예에서, 본 발명에 따르는 CAR은 다음을 포함한다:
- [0103] (i) 바람직하게는 서열번호 61의 서열을 갖는 HCVR 및 서열번호 81의 서열을 갖는 LCVR을 포함하며, 바람직하게는 서열번호 134의 서열을 갖는 링커(linker)에 의해 연결된 항-인간 CD45RC scFv,
- [0104] (ii) 바람직하게는 서열번호 145의 서열을 갖는, CD8 α 로부터 유래된 힌지 도메인,
- [0105] (iii) 바람직하게는 서열번호 153의 서열을 갖는, 인간 CD8 α 막관통 도메인, 및
- [0106] (iv) 바람직하게는 서열번호 167의 서열을 갖는, 인간 CD28 신호전달 도메인, 및 바람직하게는 서열번호 157의 서열을 갖는, 인간 CD3 제타 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인.
- [0107] 본 발명은 또한 본 발명에 따르는 CAR을 인코딩하는 핵산에 관한 것이다.
- [0108] 본 발명은 또한 본 발명에 따르는 핵산을 포함하는 발현 벡터(expression vector)에 관한 것이다.
- [0109] 본 발명은 또한 본 발명에 따르는 CAR을 세포 표면에서 발현하도록 조작된 면역 세포 집단(immune cell population)에 관한 것이다.
- [0110] 하나의 구현예에서, 상기 면역 세포 집단은 CD45RC^{neg} 세포 집단이다.
- [0111] 하나의 구현예에서, 상기 면역 세포 집단은 조절 T 세포 집단, 이펙터 T 세포 집단, 기억 T 세포 집단, NKT 세포 집단 또는 MAIT 세포 집단이다.
- [0112] 하나의 구현예에서, 상기 면역 세포 집단은 조절 T 세포 집단이고, 바람직하게는 여기서 상기 조절 T 세포 집단은 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg, Tr1 세포, TGF- β 분비 Th3 세포, 조절 NKT 세포, 조절 $\gamma\delta$ T 세포, 조절 CD8⁺ T 세포, 및 이중 음성 조절 T 세포로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0113] 본 발명은 또한 본 발명에 따르는 CAR을 세포 표면에서 발현하도록 조작된 적어도 하나의 면역 세포 집단을 포함하는 조성물에 관한 것이고, 여기서 상기 조성물은 바람직하게는 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 추가로 포함하는 약제학적 조성물이다.
- [0114] 본 발명은 또한 의약으로서 사용하기 위한, 본 발명에 따르는 면역 세포 집단, 또는 본 발명에 따르는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0115] 본 발명은 또한 이를 필요로 하는 대상체(subject)에서 면역 내성을 유도하거나, 이식 거부반응을 예방 또는 감소시키거나, 또는 이식편-대-숙주 질환(GVHD)을 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한 본 발명에 따르는 면역 세포 집단, 또는 본 발명에 따르는 조성물에 관한 것이다.
- [0116] 본 발명은 또한 자가 면역 질환, 원하지 않은 면역 반응, 단일유전자 질환, 림프종 및 암으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 CD45RC^{neg}-관련 상태를 예방, 감소 및/또는 치료하는 데 사용하기 위한 본 발명에 따르는 면역 세

포 집단 또는 본 발명에 따르는 조성물에 관한 것이다.

[0117] 정의

[0118] "항체" 또는 "면역글로불린"

[0119] 본원에 사용된 용어 "면역글로불린"은 임의의 관련 특정 면역반응성을 포함하는지 여부에 관계없이 2개의 중쇄와 2개의 경쇄의 조합을 갖는 단백질을 지칭한다. "항체"는 관심 있는 항원(예: 인간 CD45RC)에 대한 유의한 공지된 특정 면역반응성 활성을 갖는 이러한 조립체를 지칭한다. 용어 "항-hCD45RC 항체"는 인간 CD45RC 단백질에 대한 면역학적 특이성을 나타내는 항체를 지칭하기 위해 본원에 사용된다. 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같이, 인간 CD45RC에 대한 "특이성"은 hCD45RC의 중 동족체와의 교차 반응을 배제하지 않는다.

[0120] 항체 및 면역글로불린은 그들 사이에 쇠간 공유 연결을 포함하거나 포함하지 않는 경쇄 및 중쇄를 포함한다. 척추동물 시스템의 기본적인 면역글로불린 구조는 비교적 잘 이해된다. 일반적인 용어 "면역글로불린"은 생화학적으로 구별될 수 있는 항체의 5개의 별개의 부류를 포함한다. 다음 논의는 일반적으로 면역글로불린 분자의 IgG 부류에 관한 것이지만, 항체의 5개 부류는 모두 본 발명의 범위내에 있다. IgG와 관련하여, 면역글로불린은 분자량이 약 23kDa인 2개의 동일한 경쇄 폴리펩티드와 분자량이 약 53-70kDa인 2개의 동일한 중쇄를 포함한다. 4개의 쇠는 "Y" 배열에서 디설파이드 결합에 의해 결합되고, 여기서 경쇄는 "Y"의 어귀에서 출발하고 가변 영역을 통해 계속되는 중쇄를 팔호로 묶는다. 항체의 경쇄는 카파(κ) 또는 람다(λ)로서 분류된다. 각각의 중쇄 부류는 κ 또는 λ 경쇄와 결합될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄는 서로 공유 결합되고, 2개의 중쇄의 "꼬리" 영역은 면역글로불린이 하이브리도마, B 세포 또는 유전적으로 조작된 숙주 세포에 의해 생성될 때 공유 디설파이드 결합 또는 비공유 결합에 의해 서로 결합된다. 중쇄에서, 아미노산 서열은 Y 배열의 포크와 말단의 N-말단으로부터 각 쇠의 바닥의 C-말단까지 진행된다. 당업자는 중쇄가 그들 중 일부 하위부류(예: $\gamma 1-\gamma 4$)와 함께 감마(γ), 뮤(μ), 알파(α), 델타(δ) 또는 엡실론(ϵ)으로서 분류된다는 것을 인식할 것이다. 그것은 항체의 "부류"를 각각 IgG, IgM, IgA, IgD 또는 IgE로서 결정하는 이 쇠의 특성이다. 면역글로불린 하위부류 또는 "아이소타입"(예: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 등)은 잘 특성화되고, 기능적 특수화를 부여하는 것으로 공지되어 있다. 이러한 부류 및 아이소타입 각각의 변형된 버전은 본 개시 내용을 고려하여 당업자가 쉽게 인식 가능하며, 따라서 본 발명의 범위내에 있다. 상기 표시된 바와 같이, 항체의 가변 영역은 항체가 선택적으로 인식되고 항원 상의 에피토프에 특이적으로 결합하도록 한다. 즉, 항체의 경쇄 가변 도메인(V_L 도메인) 및 중쇄 가변 도메인(V_H 도메인)은 결합하여 3차원 항원 결합 부위를 규정하는 가변 영역을 형성한다. 이 4급 항체 구조는 "Y"의 각 암의 말단에 존재하는 항원 결합 부위를 형성한다. 보다 구체적으로, 항원 결합 부위는 V_H 및 V_L 쇠 각각의 3개의 상보성 결정 영역(CDR)에 의해 정의된다.

[0121] "항체 단편"

[0122] 본원에 사용된 용어 "항체 단편"은 항원의 에피토프와 (예를 들어, 결합, 입체 장애, 안정화/불안정화, 공간 분포에 의해) 특이적으로 상호작용하는 능력을 보유하는 무손상 항체의 적어도 하나의 부분, 바람직하게는 무손상 항체의 항원 결합 영역 또는 가변 영역을 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 단편, scFv 항체 단편, 디설파이드-연결된 Fvs(sdFv), V_H 및 $CH1$ 도메인으로 이루어진 Fd 단편, 선형 항체, 단일 도메인 항체, 예를 들어, sdAb(V_L 또는 V_H), 카멜리드 V_{HH} 도메인, 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체, 예를 들어, 힌지 영역에서 이황화 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편, 및 항체의 단리된 CDR 또는 다른 에피토프 결합 단편을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 항원 결합 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv에 혼입될 수 있다(예를 들어, Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005 참조). 항원 결합 단편은 또한 피브로넥틴 유형 III과 같은 폴리펩티드에 기초한 스캐폴드에 그래프팅될 수 있다(참조: 미국 특허 제6,703,199호, 이는 피브로넥틴 폴리펩티드 미니바디를 기재함). 항체의 파파인 소화는 "Fab" 단편이라고 불리는 두 개의 동일한 항원 결합 단편, 및 쉽게 결정화시키는 능력을 반영하는 명칭인 잔류 "Fc" 단편을 생성한다. Fab 단편은 H 쇠의 가변 영역 도메인(V_H) 및 하나의 중쇄의 제1 불변 도메인($CH1$)과 함께 전체 L 쇠로 구성된다. 각각의 Fab 단편은 항원 결합에 대하여 1가이며, 즉 단일 항원 결합 부위를 갖는다. 항체의 펩신 처리는 2가 항원 결합 활성을 갖는 2개의 디설파이드 연결된 Fab 단편에 대략적으로 상응하고 여전히 항원을 가교결합시킬 수 있는 단일 큰 F(ab')₂ 단편을 산출한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 $CH1$ 도메인의 카르복시 말단에 추가의 몇 개의 잔기를 가짐으로써 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 유리 티올 그룹을 보유하는 Fab'에 대한 본원에서의 명칭이다.

F(ab')₂ 항체 단편은 원래 그들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로서 생성되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링도 또한 공지되어 있다.

[0123] "결합 단편" 또는 "항원-결합 단편"

[0124] 본원에 사용된 용어 "결합 단편"은 전체 항체보다 더 적은 아미노산 잔기를 포함하는 본 발명에 따르는 항체의 부분 또는 영역을 지칭한다. "결합 단편"은 항원에 결합하고/하거나 그것이 유래되는 전체 항체와 항원 결합 (예: 인간 CD45RC에 대한 특이적 결합)에 대해 경쟁한다. 항체 결합 단편은, 임의의 제한 없이, 단일쇄 항체, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab)'₂, Fd, 탈푸코실화 항체, 디아바디, 트리아바디 및 테트라바디를 포함한다.

[0125] "상이한 아미노산에 의해 치환되는 [...] 아미노산을 갖는 것으로 특성화된다"

[0126] 본원에 사용된 바와 같이, 소정의 서열과 관련하여 "상이한 아미노산에 의해 치환된 [...] 아미노산을 갖는 것으로 특성화된다"는 문구는 상기 서열에서 "보존적 아미노산 변형"의 발생을 지칭한다.

[0127] "보존적 아미노산 변형"

[0128] 본원에 사용된 용어 "보존적 아미노산 변형"은 아미노산 서열을 함유하는 항체 또는 이의 결합 단편의 결합 특성에 상당히 영향을 미치지거나 이를 변경하지 않는 변형을 지칭한다. 이러한 보존적 변형은 아미노산 치환, 첨가 및 결실을 포함한다. 변형은 당업계에서 공지된 표준 기술, 예를 들어, 부위 지시된 돌연변이발생 및 PCR-매개 돌연변이발생에 의해 항체 또는 이의 결합 단편에 도입될 수 있다.

[0129] 보존적 아미노산 치환은 전형적으로 아미노산 잔기가 유사한 물리화학적 성질을 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것들이다. 특정 가변 영역 및 CDR 서열은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34개 또는 그 이상의 아미노산 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함할 수 있다. 치환이 수행되는 경우, 바람직한 치환은 보존적 변형일 것이다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 계열은 당업계에서 정의된다. 이러한 계열은 염기성 측쇄(예: 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예: 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄(예: 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄(예: 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), β-분지된 측쇄(예: 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예: 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다. 따라서, 본 발명에 따르는 항체 또는 이의 결합 단편의 CDR 및/또는 가변 영역 내의 하나 이상의 아미노산 잔기는 동일한 측쇄 계열의 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있고, 변경된 항체는 본원에 기재된 검정을 사용하여 유지된 기능(즉, 예를 들어, hCD45RC에 대한 결합과 같은 본원에 제시된 특성)에 대해 테스트될 수 있다. 다른 구현예에서, 본 발명에 따르는 항체 또는 이의 결합 단편의 CDR 및/또는 가변 영역 내의 아미노산의 스트링은 측쇄 계열 구성원의 순서 및/또는 조성이 다른 구조적으로 유사한 스트링으로 대체될 수 있다.

[0130] "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"

[0131] 본원에 사용된 용어 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"은 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 모두의 가변 영역 내에서 발견된 비인접 항원 결합 부위를 지칭한다. CDR은 문헌[참조: Kabat *et al.*, 1991. *Sequences of proteins of immunological interest* (5th ed.). Bethesda, MD: U.S. Dep. of Health and Human Services; 및 Chothia and Lesk, 1987. *J Mol Biol.* 196(4):901-17]으로부터 추론된 바와 같이, 표 1의 규칙에 따라 동정되었다:

중쇄 가변 영역 (HCVR 또는 V _H)			
	V _H -CDR1	V _H -CDR2	V _H -CDR3
시작	초티아/AbM 정의에 따르는 대략 잔기 26(항상 Cys 후 4)	카바트 /AbM 정의에 따르는 V _H -CDR1의 말 단 후 항상 15 개 잔기	V _H -CDR2의 말단 후 항상 33 개 잔기 Cys 후 항상 2 개 잔기
잔기 전	초티아/AbM 정의에 따르는 임의의 아미노산인 Xaa와 함께, 항상 Cys-Xaa-Xaa-Xaa	전형적으로, Leu-Glu-Trp-Ile-Gly, 그러나 다수의 변동	임의의 아미노산인 Xaa와 함께 항상 Cys-Xaa-Xaa 전형적으로, Cys-Ala-Arg
잔기 후	항상 Trp 전형적으로, Trp-Val, 뿐만 아니라, Trp-Ile 또는 Trp-Ala	Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala	임의의 아미노산인 Xaa와 함께 항상 Trp-Gly-Xaa-Gly
길이	AbM 정의에 따르는 10 내지 12 개 잔기 초티아 정의는 최종 4 개 잔기를 배제한다 카바트 정의에 따르는 5 내지 7 개 잔기	카바트 정의에 따르는 16 내지 19 개 잔기 AbM 정의는 조기에 7 개 잔기를 종결한다	3 내지 25 개 잔기

경쇄 가변 영역 (LCVR 또는 V _L)			
	V _L -CDR1	V _L -CDR2	V _L -CDR3
시작	대략 잔기 24 에서	V _L -CDR1의 말단 후 항상 16 개 잔기	V _L -CDR2의 말단 후 항상 33 개 잔기 (CDR-L2*의 말단에서 결실을 갖는 NEW (PDB ID: 7FAB) 제외)
잔기 전	항상 Cys	일반적으로, Ile-Tyr, 뿐만 아니라, Val-Tyr, Ile-Lys 또는 Ile-Phe	항상 Cys
잔기 후	항상 Trp 전형적으로, Trp-Tyr-Gln, 뿐만 아니라, Trp-Leu-Gln, Trp-Phe-Gln 또는 Trp-Tyr-Leu		임의의 아미노산인 Xaa와 함께 항상 Phe-Gly-Xaa-Gly
길이	10 내지 17 개 잔기	항상 7 개 잔기(이 영역*에서 결실을 갖는 NEW (PDB ID: 7FAB) 제외)	7 내지 11 개 잔기

* Saul & Poliak, **1992**. *Proteins*. **14**(3):363-71

"조작된"

본원에 사용된 용어 "조작된" 또는 "변형된"은 형질감염, 형질전환 또는 형질도입된 세포를 지칭한다.

"에피토프"

본원에 사용된 용어 "에피토프"는 항체 또는 이의 결합 단편이 결합하는 단백질 또는 단백질들 상에 위치한 아미노산의 특정 배열을 지칭한다. 에피토프는 종종 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자의 화학적 활성 표면 그룹화로 구성되고, 특정 3차원 구조 특성뿐만 아니라 특정 전하 특성을 갖는다. 에피토프는 선형 (또는 순차적) 또는 입체 배열될 수 있다, 즉 반드시 인접할 필요는 없는 항원의 다양한 영역에 아미노산의 2개 이상의 서열을 포함할 수 있다.

"단편"

본원에 사용된 용어 항원의 "단편"은 더 짧은 펩티드로서 항원의 임의의 하위세트를 지칭한다. 일부 구현예에서, 항원의 단편은 적어도 6개 아미노산 길이의 펩티드이다. 일부 구현예에서, 항원의 단편은 6 내지 50개 아미노산 길이, 6 내지 30개 아미노산, 또는 6 내지 20개 아미노산 길이의 펩티드이다.

"프레임워크 영역" 또는 "FR" 또는 "비-CDR 영역"

본원에 사용된 용어 "프레임워크 영역", "FR" 또는 "비-CDR 영역"은 가변 영역의 일부이지만, CDR(예: CDR의 카바트/초티아 정의를 사용함)의 일부는 아닌 아미노산 잔기를 포함한다. 따라서, 가변 영역 프레임워크는 길이

가 약 100-120개 아미노산 사이이지만, CDR의 외부 아미노산만을 포함한다.

[0142] HCVR의 특정 예 및 카바트/초티아에 의해 정의된 바와 같은 CDR의 경우:

[0143] - FR1은 초티아/AbM 정의에 따르는 아미노산 1-25 또는 카바트 정의에 따르는 나중 5개 잔기를 포함하는 가변 영역의 도메인에 상응할 수 있고;

[0144] - FR2는 아미노산 36-49를 포함하는 가변 영역의 도메인에 상응할 수 있고;

[0145] - FR3은 아미노산 67-98을 포함하는 가변 영역의 도메인에 상응할 수 있고;

[0146] - FR4는 아미노산 104-110으로부터 가변 영역의 말단에 이르는 가변 영역의 도메인에 상응할 수 있다.

[0147] 경쇄를 위한 프레임워크 영역은 LCVR의 CDR 각각에 의해 유사하게 분리된다. 자연적으로 발생하는 항체에서, 각각의 단량체성 항체에 존재하는 6개의 CDR은 항체가 수성 환경에서 3차원 형태를 가정할 때 항원 결합 부위를 형성하도록 특이적으로 배치된 아미노산의 짧은 비연속 서열이다. 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 나머지는 아미노산 서열에서 더 적은 분자간 가변성을 나타내고, 프레임워크 영역이라고 칭명된다. 프레임워크 영역은 주로 β -시트 형태를 채택하고, CDR은 β -시트 구조를 연결하고, 일부 경우에, β -시트의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 따라서, 이러한 프레임워크 영역은 쇠간 비공유 상호작용에 의해 정확한 배향으로 6개의 CDR을 배치하는 것을 제공하는 스캐폴드를 형성하는 작용을 한다. 배치된 CDR에 의해 형성된 항원 결합 부위는 면역 반응성 항원 상의 에피토프에 대해 상보성인 표면을 규정한다. 이 상보성 표면은 면역 반응성 항원 에피토프에 대한 항체의 비공유 결합을 촉진한다. CDR의 위치는 당업자에 의해 쉽게 동정될 수 있다.

[0148] "중쇄 영역"

[0149] 본원에 사용된 용어 "중쇄 영역"은 면역글로불린 중쇄의 불변 도메인으로부터 유도된 아미노산 서열을 포함한다. 중쇄 영역을 포함하는 단백질은 C_H1 도메인, 힌지(예: 상부, 중앙 및/또는 하부 힌지 영역) 도메인, C_H2 도메인, C_H3 도메인 또는 이의 변이체 또는 단편 중 적어도 하나를 포함한다. 하나의 구현예에서, 본 발명에 따르는 항체 또는 이의 결합 단편은 면역글로불린 중쇄(예: 힌지 부분, C_H2 도메인 및 C_H3 도메인)의 Fc 영역을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 본 발명에 따르는 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 불변 도메인의 영역(예: C_H2 도메인 모두 또는 일부)이 결여된다. 특정 구현예에서, 적어도 하나의, 바람직하게는 모든 불변 도메인은 인간 면역글로불린 중쇄로부터 유래된다. 예를 들어, 하나의 바람직한 구현예에서, 중쇄 영역은 완전 인간 힌지 도메인을 포함한다. 다른 바람직한 구현예에서, 중쇄 영역은 완전 인간 Fc 영역(예: 인간 면역글로불린으로부터의 힌지, C_H2 및 C_H3 도메인 서열)을 포함한다. 특정 구현예에서, 중쇄 영역의 구성 요소 불변 도메인은 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래된다. 예를 들어, 단백질의 중쇄 영역은 IgG1 분자로부터 유도된 C_H2 도메인 및 IgG3 또는 IgG4 분자로부터 유도된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 불변 도메인은 상이한 면역글로불린 분자의 영역을 포함하는 키메라 도메인이다. 예를 들어, 힌지는 IgG1 분자로부터의 제1 영역과 IgG3 또는 IgG4 분자로부터의 제2 영역을 포함할 수 있다. 상기 제시된 바와 같이, 중쇄 영역의 불변 도메인은 그들이 자연적으로 발생하는 (야생형) 면역글로불린 분자로부터의 아미노산 서열이 다양하도록 변형될 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다. 즉, 본 발명에 따르는 항체 또는 이의 결합 단편은 하나 이상의 중쇄 불변 도메인(C_H1, 힌지, C_H2 또는 C_H3) 및/또는 경쇄 불변 도메인(C_L)에 대한 변경 또는 변형을 포함할 수 있다. 예시적인 변형은 하나 이상의 도메인에서 하나 이상의 아미노산의 추가, 결실 또는 치환을 포함한다.

[0150] "힌지 영역"

[0151] 항체 내에서, 용어 "힌지 영역"은 C_H1 도메인을 C_H2 도메인에 결합하는 중쇄 분자의 영역을 포함한다. 이 힌지 영역은 대략 25개의 잔기를 포함하고, 가요성이며, 따라서 2개의 N-말단 항원 결합 영역이 독립적으로 움직일 수 있도록 한다. 힌지 영역은 3개의 별개의 도메인으로 소분류화될 수 있다: 상부, 중앙 및 하부 힌지 도메인 (참조: Roux *et al.*, 1998. *J Immunol.* 161(8):4083-90).

[0152] CAR 분자 내에서, 용어 "힌지 영역"은 세포의 결합 도메인을 막관통 도메인과 연결하는 영역을 지칭한다.

[0153] "초가변 루프"

[0154] 초가변 루프(HV)는 구조를 기반으로 정의되는 반면, CDR은 서열 가변성을 기반으로 정의되고(참조: Kabat *et al.*, 1991. *Sequences of proteins of immunological interest* (5th ed.). Bethesda, MD: U.S. Dep. of Health

and Human Services), HV와 CDR의 한계가 일부 V_H 및 V_L 도메인에서 상이할 수 있기 때문에, 용어 "초가변 루프"는 엄밀히 상보성 결정 영역(CDR)과 동의어가 아니다. V_L 및 V_H 도메인의 CDR은 전형적으로 이미 상기 설명된 바와 같이 카바트/초티아 정의에 의해 정의될 수 있다.

[0155] **"동일성" 또는 "동일한"**

[0156] 본원에 사용된 용어 "동일성" 또는 "동일한"은, 둘 이상의 아미노산 서열 또는 둘 이상의 핵산 서열의 서열 사이의 관계에 사용될 때, 둘 이상의 아미노산 잔기 또는 핵산 잔기의 스트링 사이의 일치 수에 의해 결정된 바와 같이, 아미노산 서열 또는 핵산 서열 사이의 서열 관련성의 정도를 지칭한다. "동일성"은 특정의 수학적 모델 또는 컴퓨터 프로그램(즉, "알고리즘")에 의해 어드레스된 갭 정렬(있는 경우)을 갖는 둘 이상의 서열 중 더 작은 것 사이의 동일한 일치 퍼센트를 측정한다.

[0157] 관련된 아미노산 서열 또는 핵산 서열의 동일성은 공지된 방법에 의해 쉽게 계산될 수 있다. 이러한 방법은 문헌[참조: Lesk A. M. (1988). *Computational molecular biology: Sources and methods for sequence analysis*. New York, NY: Oxford University Press; Smith D. W. (1993). *Biocomputing: Informatics and genome projects*. San Diego, CA: Academic Press; Griffin A. M. & Griffin H. G. (1994). *Computer analysis of sequence data, Part 1*. Totowa, NJ: Humana Press; von Heijne G. (1987). *Sequence analysis in molecular biology: treasure trove or trivial pursuit*. San Diego, CA: Academic press; Gribskov M. R. & Devereux J. (1991). *Sequence analysis primer*. New York, NY: Stockton Press; Carillo *et al.*, 1988. *SIAM J Appl Math.* **48**(5):1073-82]에 기재된 것들을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0158] 동일성을 결정하기 위한 바람직한 방법은 테스트된 서열 간의 가장 큰 일치를 제공하도록 설계된다. 동일성을 결정하는 방법은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 프로그램으로 기재된다. 두 서열 사이의 동일성을 결정하기 위한 바람직한 컴퓨터 프로그램 방법은 GAP(참조: Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI; Devereux *et al.*, 1984. *Nucleic Acids Res.* **12**(1 Pt 1):387-95), BLASTP, BLASTN, 및 FASTA(참조: Altschul *et al.*, 1990. *J Mol Biol.* **215**(3):403-10)를 포함하는 GCG 프로그램 패키지를 포함한다. BLASTX 프로그램은 국립 생물 공학 정보 센터(NCBI) 및 다른 공급원(BLAST Manual, Altschul *et al.* NCB/NLM/NIH Bethesda, Md. 20894)으로부터 공개적으로 이용 가능하다. 익히 공지된 스미스-워터만 알고리즘(Smith Waterman algorithm)도 또한 동일성을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0159] **"면역 세포"**

[0160] 본원에 사용된 용어 "면역 세포"는 일반적으로 골수에서 생산된 조혈 줄기 세포(HSC)로부터 유래되는 백혈구(백혈구)를 포함한다. 면역 세포의 예는 림프구(T 세포, B 세포, 및 자연 살해(NK) 세포) 및 골수 유래 세포(호중구, 호산구, 호염기구, 단핵구, 대식세포, 수지상 세포)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0161] **"면역 특이적", "~에 특이적" 또는 "특이적으로 결합하다"**

[0162] 본원에 사용된 바와 같이, 항체 또는 이의 결합 단편은 상기 항원(예: hCD45RC)과 검출 가능한 수준으로, 바람직하게는 약 $10^6 M^{-1}$ 이상, 바람직하게는 약 $10^7 M^{-1}$, $10^8 M^{-1}$, $5 \times 10^8 M^{-1}$, $10^9 M^{-1}$, $5 \times 10^9 M^{-1}$ 이상의 친화도 상수(K_A)로 반응하는 경우 항원에 "면역특이적", "특이적" 또는 "특이적으로 결합한다"고 한다.

[0163] 그의 동족 항원에 대한 항체 또는 이의 결합 단편의 친화성은 또한 일반적으로 평형 해리 상수(K_D)로서 표현된다. 항체 또는 이의 결합 단편은 상기 항원(예: hCD45RC)과 검출 가능한 수준으로, 바람직하게는 약 $10^{-6} M$ 이하, 바람직하게는 약 $10^{-7} M$, $5 \times 10^{-8} M$, $10^{-8} M$, $5 \times 10^{-9} M$, $10^{-9} M$ 이하의 K_D 로 반응하는 경우 항원에 "면역특이적", "특이적" 또는 "특이적으로 결합한다"고 한다.

[0164] 항체 또는 이의 결합 단편의 친화성은 통상적 기술, 예를 들어, 문헌[참조: Scatchard, 1949. *Ann NY Acad Sci.* **51**:660-672]에 기재된 것들을 사용하여 쉽게 결정될 수 있다. 항원, 세포 또는 조직에 대한 항체 또는 이의 결합 단편의 결합 특성은, 예를 들어, ELISA, 면역형광 기반 검정, 예를 들어, 면역-조직화학(IHC) 및/또는 형광 활성화 세포 분류(FACS)를 포함하는 면역검출 방법을 사용하여 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR, 예를 들어, BIAcore®를 사용함)에 의해 일반적으로 결정되고 평가될 수 있다.

[0165] **"단리된 항체"**

- [0166] 본원에 사용된 용어 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체(예: hCD45RC에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 hCD45RC 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없다)를 지칭하는 것으로 의도된다. 그러나, hCD45RC에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 종으로부터의 CD45RC 분자와 같은 다른 항원에 대한 교차 반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학 물질, 특히, 제한 없이, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 성분을 포함하는 항체의 진단적 또는 치료적 용도를 방해하는 것들이 실질적으로 없을 수 있다.
- [0167] **"단리된 핵산"**
- [0168] 본원에 사용된 용어 "단리된 핵산"은 자연적으로 천연 서열을 동반하는 리보솜 및 폴리머라제와 같은 단백질 또는 복합체뿐만 아니라 다른 게놈 DNA 서열로부터 실질적으로 분리된 핵산을 지칭하는 것으로 의도된다. 상기 용어는 그의 자연적으로 발생하는 환경으로부터 제거된 핵산 서열을 포함하고, 제조합 또는 클로닝된 DNA 단리물 및 화학적으로 합성된 유사체 또는 이중성 시스템에 의해 생물학적으로 합성된 유사체를 포함한다. 실질적으로 순수한 핵산은 핵산의 단리된 형태를 포함한다. 물론, 이것은 원래 단리된 핵산을 지칭하고, 나중에 사람의 손에 의해 단리된 핵산에 첨가된 유전자 또는 서열을 배제하지 않는다.
- [0169] **"리간드"**
- [0170] 본원에 사용된 용어 "리간드"는 리간드/수용체 쌍의 구성원을 지칭하고, 그 쌍의 다른 구성원에 결합한다.
- [0171] **"모노클로날 항체"**
- [0172] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉 집단에 포함된 개별적 항체는 최소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연적으로 발생하는 돌연변이를 제외하고 동일하다. 모노클로날 항체는 매우 특이적이며, 단일 항원 부위에 대해 지시된다. 또한, 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와 대조적으로, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 지시된다. 그들의 특이성에 부가하여, 모노클로날 항체는 그들이 다른 항체에 의해 오염되지 않고 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 변형체 "모노클로날"은 임의의 특정 방법에 의해 항체의 생산을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따르는 모노클로날 항체 또는 이의 결합 단편은 먼저 문헌[참조: Kohler *et al.*, 1975. *Nature*. 256(5517):495-7]에 기재된 하이브리도마 방법론에 의해 제조될 수 있거나, 박테리아, 진핵 동물 또는 식물 세포에서 제조합 DNA 방법을 사용하여 제조될 수 있다 (US 특허 4,816,567). "모노클로날 항체"는 또한, 예를 들어, 문헌[참조: Clackson *et al.*, 1991. *Nature*. 352(6336):624-8 and Marks *et al.*, 1991. *J Mol Biol*. 222(3):581-97]에 기재된 기술을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.
- [0173] **"MAIT 세포"**
- [0174] 본원에 사용된 용어 "MAIT 세포"는 점막-관련 불변 T 세포를 지칭한다. MAIT 세포는 그들의 TCR 및 TCR 독립 신호(예: 사이토카인)를 통해 활성화될 수 있다. MAIT 세포는 박테리아 또는 바이러스 감염을 감지하고 이펙터 사이토카인을 생산하고/하거나 이러한 신호에 반응하여 탈과립화할 수 있다.
- [0175] **"NK 세포"**
- [0176] 본원에서 사용된 바와 같이, "NK 세포" 또는 "자연 살해 세포"는 선천적 면역에 중요한 역할을 하는 세포독성 림프구를 지칭한다. NK 세포는 끊임없이 다른 세포와 접촉한다. NK 세포는 세포 표면에서 활성화 및 억제 수용체를 발현한다. 이 메커니즘은 NK 세포가 세포가 "정상"인지 (따라서 제거되지 않아야 함) 또는 세포가 종양 세포 또는 감염된 세포와 같이 "비정상적"인지 (따라서 사멸되어야 함)를 인식할 수 있게 한다.
- [0177] **"NKT 세포"**
- [0178] 본원에 사용된 바와 같이, "NKT 세포" 또는 "자연 살해 T 세포"는 NK 림프구 마커 뿐만 아니라 T 림프구 마커를 표시하는 세포독성 림프구를 지칭한다. 자연 살해(NK) 세포 및 자연 살해 T(NKT) 세포는 선천적 면역에서 중요한 두 가지 유형의 세포이다. NK 및 NKT 세포는 모두 종양 세포뿐만 아니라 병원성 세포의 세포사를 유도하는 세포독성 세포이다. NK 세포와 NKT 세포의 가장 큰 차이점은 NK 세포는 큰 과립 림프구인 반면, NKT 세포는 T 세포의 일종이라는 것이다.
- [0179] **"핵산" 또는 "폴리뉴클레오타이드"**
- [0180] 본원에 사용된 용어 "핵산" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 포스포디에스테르 결합에 의해 공유적으로 연결된 뉴클

레오티드의 중합체, 예를 들어, 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태의 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA)을 지칭한다. 특별히 제한되지 않는 한, 상기 용어는 참조 핵산과 유사한 결합 특성을 가지며 자연적으로 발생하는 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는 천연 뉴클레오티드의 공지된 유사체를 함유하는 핵산을 포함한다. 달리 지시되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 명백하게 지시된 서열뿐만 아니라 이의 보존적으로 변형된 변이체(예: 축퇴성 코돈 치환), 대립유전자, 오르토로그, SNP, 및 상보적 서열을 암시적으로 포함한다. 구체적으로, 축퇴성 코돈 치환은 하나 이상의 선택된 (또는 모든) 코돈의 세 번째 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환되는 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(참조: Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al.,

J. Biol.Chem. 260:2605-2608 (1985); and Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)).

"예방하다" 또는 "예방하는" 또는 "예방"

본원에 사용된 용어 "예방하다", "예방하는" 및 "예방"은 예방적 및 예방 조치를 지칭하고, 여기서 목적은 대상체가 소정의 시간 동안 병리학적 상태 또는 장애를 발생시킬 기회를 감소시키는 것이다. 이러한 감소는, 예를 들어, 대상체에서 병리학적 상태 또는 장애의 적어도 하나의 증상의 지연된 개시로 반영될 수 있다.

"프로모터"

본원에 사용된 용어 "프로모터"는 폴리뉴클레오티드 서열의 특이적 전사를 개시하는데 필요한 세포의 합성 기계, 또는 도입된 합성 기계에 의해 인식되는 DNA 서열을 지칭한다.

"대상체"

본원에 사용된 용어 "대상체"는 포유동물, 바람직하게는 인간을 지칭한다. 하나의 구현예에서, 대상체는 의학 적 치료의 수령을 기다리고 있거나 의학 적 치료를 받고 있거나 의학 적 절차의 대상이었거나/이거나/일 것이거나 질환의 발생에 대해 모니터링되는 "환자", 즉 온혈 동물, 보다 바람직하게는 인간일 수 있다. 본원에서 용어 "포유동물"은 인간, 가정용 및 농장 동물, 및 동물원, 스포츠 또는 애완 동물, 예를 들어, 개, 고양이, 소, 말, 양, 돼지, 염소, 토끼 등을 포함하는 임의의 포유동물을 지칭한다. 바람직하게는, 포유동물은 영장류, 더욱 바람직하게는 인간이다.

"형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"

본원에 사용된 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"은 외인성 핵산이 숙주 세포로 전사 또는 도입되는 과정을 지칭한다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 세포는 외인성 핵산으로 형질감염, 형질전환 또는 형질도입된 세포이다. 상기 세포는 1차 대상체 세포 및 그의 자손을 포함한다.

"치료하는" 또는 "치료" 또는 "경감"

본원에 사용된 용어 "치료하는" 또는 "치료" 또는 "경감"은 예방적 또는 예방 조치를 제외한 치료적 치료를 지칭하고, 여기서 목적은 표적화된 병리학적 상태 또는 장애를 늦추는(줄이는) 것이다. 치료를 필요로 하는 사람들에는 이미 장애를 갖고 있는 사람들뿐만 아니라 장애를 갖는 것으로 의심되는 사람들을 포함한다. 대상체는, 본 발명에 따르는 단리된 항체 또는 이의 결합 단편, 핵산, 발현 벡터, 조성물, 약제학적 조성물 또는 의약의 치료량을 복용한 후 상기 대상체가 다음 중 하나 이상의 존재하 또는 부재하에 관찰 가능하고/하거나 측정 가능한 감소를 나타내는 경우, 표적화된 병리학적 상태 또는 장애가 성공적으로 "치료된다": CD45RC^고 세포 수의 감소; CD45RC^고인 전체 세포의 퍼센트 감소; 특정 질환 또는 상태와 관련된 하나 이상의 증상의 어느 정도까지의 경감; 감소된 이환율 및 사망률; 및/또는 삶의 질의 향상. 질환에서 성공적 치료 및 개선을 평가하기 위한 상기 파라미터는 의사에게 친숙한 일상적인 절차에 의해 쉽게 측정 가능하다.

"Treg 세포"

본원에 사용된 용어 "Treg 세포"는 과도하거나 원치 않는 염증 반응, 예를 들어, 자가 면역 또는 알레르기 반응을 억제, 억제 또는 예방할 수 있는 세포를 지칭한다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 Treg 세포 집단은 억제 활성일 수 있다. 하나의 구현예에서, 상기 억제 활성은 접촉 독립적이다. 또 다른 구현예에서, 상기 억제 활성은 접촉 의존적이다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 Treg 세포 집단은 이펙터 T 세포에 대한 억제 작용을 제시하며, 바람직하게는 상기 억제 작용은 TCR 발현 및/또는 활성화에 의존적이다.

"Teff 세포"

- [0195] 본원에 사용된 용어 "Teff 세포"는 T 이펙터 세포를 지칭한다. Teff 세포는 CD4+ T 헬퍼 세포 및 CD8+ 세포독성 T 세포를 포함한다. Teff 세포는 항원 도전 후 세포-매개 면역에서 중심 역할을 한다. Treg 세포는 Teff 세포의 핵심 조절자이다.
- [0196] **"기억 T 세포"**
- [0197] 본원에 사용된 용어 "기억 T 세포"는 이전에 그들의 동족 항원에 직면하고 반응한 T 세포의 서브세트를 지칭한다. T 세포가 아직 항원에 노출되지 않은 나이브 T 세포와 비교하여, 기억 T 세포는 더 빠르고 강력한 면역 반응을 탑재할 수 있다.
- [0198] **"가변 영역" 또는 "가변 도메인"**
- [0199] 본원에 사용된 용어 "가변성"은 가변 도메인 V_H 및 V_L 의 특정 영역이 항체 간의 서열에서 광범위하게 상이하고, 그의 표적 항원에 대한 각각의 특정 항체의 결합 및 특이성에 사용된다는 사실을 지칭한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전체에 걸쳐 고르게 분포되지 않는다. 그것은 항원 결합 부위의 일부를 형성하는 V_L 도메인 및 V_H 도메인 각각에서 "초가변 루프"로 칭명되는 3개의 세그먼트에 집중된다.
- [0200] V_L 경쇄 도메인의 제1, 제2 및 제3 초가변 루프는 본원에서 $L1(\lambda)$, $L2(\lambda)$ 및 $L3(\lambda)$ 으로서 지칭되고, V_L 도메인에 잔기 24-33($L1(\lambda)$), 9, 10 또는 11개 아미노산 잔기로 구성됨), 49-53($L2(\lambda)$), 3개의 잔기로 구성됨) 및 90-96($L3(\lambda)$), 6개의 잔기로 구성됨)을 포함하는 것으로 규정될 수 있다(참조: Morea *et al.*, 2000. *Methods*. 20(3):267-79).
- [0201] V_K 경쇄 도메인의 제1, 제2 및 제3 초가변 루프는 본원에서 $L1(\kappa)$, $L2(\kappa)$ 및 $L3(\kappa)$ 으로서 지칭되고, V_L 도메인에 잔기 25-33($L1(\kappa)$), 6, 7, 8, 11, 12 또는 13개 잔기로 구성됨), 49-53($L2(\kappa)$), 3개의 잔기로 구성됨) 및 90-97($L3(\kappa)$), 6개의 잔기로 구성됨)을 포함하는 것으로 규정될 수 있다(참조: Morea *et al.*, 2000. *Methods*. 20(3):267-79).
- [0202] V_H 도메인의 제1, 제2 및 제3 초가변 루프는 본원에서 H1, H2 및 H3으로 지칭되고, V_H 도메인에 잔기 25-33(H1, 7, 8 또는 9개의 잔기로 구성됨), 52-56(H2, 3 또는 4개의 잔기로 구성됨) 및 91-105(H3, 길이가 매우 가변적임)를 포함하는 것으로 규정될 수 있다(참조: Morea *et al.*, 2000. *Methods*. 20(3):267-79).
- [0203] 달리 표시되지 않는 한, 용어 $L1$, $L2$ 및 $L3$ 은 각각 V_L 도메인의 제1, 제2 및 제3 초가변 루프를 지칭하고, V_K 및 V_L 아이소타입 둘 다로부터 수득된 초가변 루프를 포함한다. 용어 H1, H2 및 H3은 각각 V_H 도메인의 제1, 제2 및 제3 초가변 루프를 지칭하고, 감마(γ), 뮤(μ), 알파(α), 델타(δ) 또는 엡실론(ϵ)을 포함하여 임의의 공지된 중쇄 아이소타입으로부터 수득된 초가변 루프를 포함한다. 초가변 루프 $L1$, $L2$, $L3$, H1, H2 및 H3은 각각 상기 정의된 바와 같이 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"의 부분을 포함할 수 있다.
- [0204] **"변이체"**
- [0205] 용어 항원의 "변이체"는 본원에서 천연 항원과 거의 동일하고 동일한 생물학적 활성을 공유하는 항원을 지칭한다. 천연 항원과 그의 변이체 사이의 최소한의 차이는, 예를 들어, 아미노산 치환, 결실 및/또는 부가에 있을 수 있다. 이러한 변이체는, 예를 들어, 보존적 아미노산 치환을 함유할 수 있다.
- [0206] 일부 구현예에서, 항원의 변이체는 천연 항원의 서열과 적어도 또는 약 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99%의 서열 동일성을 제시한다.
- [0207] **상세한 설명**
- [0208] 본 발명의 제1 측면은 인간 CD45RC에 특이적인 키메라 항원 수용체(CAR)에 관한 것이며, 여기서 상기 CAR은 상기 인간 CD45RC에 결합하는 적어도 하나의 세포외 결합 도메인을 포함한다. 하나의 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 항원 결합 도메인, 예를 들어, 이후 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 결합 단편이다.
- [0209] 인간 CD45RC(hCD45RC)에 결합하는 단리된 항체 또는 이의 결합 단편이 본원에 개시된다. 단리된 항체 또는 이의 결합 단편은 정제될 수 있다.
- [0210] 바람직하게는, 단리된 항체 또는 이의 결합 단편은 다음으로 정제된다:
- [0211] (1) 로리법(Lowry method)에 의해 결정된 바와 같은 항체 또는 이의 결합 단편의 80중량%, 85중량%, 90중량%,

91중량%, 92중량%, 93중량%, 94중량%, 95중량% 이상, 가장 바람직하게는 96중량%, 97중량%, 98중량% 또는 99중량% 이상;

[0212] (2) 스피닝 컵 서열분석기를 사용하여 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개 잔기를 획득하기에 충분한 정도; 또는

[0213] (3) 환원 또는 비환원 조건하에 쿠마시 블루(Coomassie blue) 또는, 바람직하게는 은 염색을 사용하여 SDS-PAGE에 의해 제시된 바와 같은 균질성.

[0214] 본원에 기재된 항체 또는 이의 결합 단편은 인간 CD45RC(hCD45RC)에 결합한다.

[0215] 본원에 사용된 용어 "CD45"(CD45R 또는 PTPRC로서 공지되기도 함)는 상이한 이소폼으로 존재하는 막관통 당단백질을 지칭한다. 이러한 CD45의 별개의 이소폼은 CD45 세포외 영역의 A, B 및 C 결정인자 각각을 코딩하는 3개의 가변 엑손(엑손 4, 5 및 6)의 대안적인 스플라이싱으로부터 생성되는 그들의 세포외 도메인 구조가 상이하다. 제한된 에피토프와 반응성인 항체는 "CD45R"로서 클러스터링된다. 따라서, 항-CD45RA, 항-CD45RB 및 항-CD45RC 항체는 각각 A, B 및 C 결정인자의 발현을 포함하는 CD45 이소폼을 인식한다. CD45의 다양한 이소폼은 상이한 세포의 도메인을 갖지만, 막에 근접한 동일한 세포외 서열뿐만 아니라 막관통 도메인 및 약 300개의 잔기의 2개의 탠덤 상동성 매우 보존된 포스파타제 도메인을 함유하는 큰 세포질 꼬리 세그먼트를 갖는다. CD45 및 이의 이소폼은 T 및 B 림프구에서 림프구 포스파타제 관련 인단백질(LPAP)과 비공유적으로 관련된다. CD45는 CD1, CD2, CD3 및 CD4를 포함하여 몇개의 다른 세포 표면 항원과 관련되는 것으로 보고되었다. CD45는 신호전달 림프구 활성화에 관여한다. 문자 "h"가 선행되는 경우(예: hCD45), 그것은 CD45가 인간 기원임을 암시한다.

[0216] 본원에 사용된 용어 "CD45RC"는 당업자로부터 익히 공지된 200-220kDa 단일 체 유형 I 막 당단백질을 지칭한다. CD45RC는 C 결정인자를 인코딩하는 엑손 6을 포함하지만(따라서, 용어 CD45RC, 즉, C 결정인자에 제한된 CD45(CD45 Restricted to C determinant)), A 및 B 결정인자를 인코딩하는 각각 엑손 4 및 5가 결합된 CD45의 대안적인 스플라이싱 이소폼이다. 인간 CD45RC의 아미노산 서열은 UniProt 수탁번호 P08575-10(버전 10, 2018년 3월 28일 변형됨 - 검사 합계: F92C874C9A114890)에 상응하는 서열번호 104로 제시된다. 이 CD45RC 이소폼은 CD8⁺ 또는 CD4⁺ Treg, CD14⁺ 단핵구 또는 PMN 상에서가 아니라 B 세포, 및 CD8⁺ T 세포 및 CD4⁺ T 세포의 서브 세트 상에서 발현된다(참조: Picarda *et al.*, 2017. *JCI Insight*. 2(3):e90088). 일부 모노클로날 항체가 모든 상이한 이소폼에 공통적인 CD45의 부분에서 에피토프를 인식할 수 있는 반면(이들은 항-CD45 항체로서 칭명된다), 다른 모노클로날 항체는 그들이 어느 결정인자를 인식하는지(A, B 또는 C)에 따라 소정의 이소폼에 대해 제한된 특이성을 갖는다. 문자 "h"가 선행되는 경우(예: hCD45RC), 그것은 CD45RC가 인간 기원임을 암시한다.

[0217] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45RC의 세포외 도메인에 결합한다. 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45RC의 세포외 도메인 상에 존재하는 적어도 하나의 에피토프에 결합한다.

[0218] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45의 엑손 6에 의해 인코딩된 C 결정인자에 결합한다. 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45의 엑손 6에 의해 인코딩된 C 결정인자 상의 적어도 하나의 에피토프에 결합한다.

[0219] 하나의 구현예에서, hCD45의 엑손 6에 의해 인코딩된 C 결정인자의 아미노산 서열은 서열번호 23을 포함하거나 이로 구성된다. 하나의 구현예에서, hCD45의 C 결정인자를 인코딩하는 엑손 6의 핵산 서열은 서열번호 24를 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 23

DVPGERSTASTFPTDPVSPLTTTSLAHSSAALPARTSNTTITANTS

서열번호 24

GATGTCCCAGGAGAGAGGAGTACAGCCAGCACCTTTCTACAGACCCAGTT
TCCCCATTGACAACCACCCTCAGCCTTGACACACCACAGCTCTGCTGCCTTAC
CTGCACGCACCTCCAACACCACCATCACAGCGAACACCTCA

[0220]

- [0221] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 23 또는 이의 단편을 포함하거나 이로 구성되는 적어도 하나의 에피토프에 결합한다.
- [0222] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 23 또는 이의 단편과 적어도 약 70%, 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일성을 공유하는 서열을 포함하거나 이로 구성되는 적어도 하나의 에피토프에 결합한다.
- [0223] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 24 또는 이의 단편을 포함하거나 이로 구성되는 핵산 서열에 의해 인코딩된 적어도 하나의 에피토프에 결합한다.
- [0224] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 24 또는 이의 단편과 적어도 약 70%, 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일성을 공유하는 서열을 포함하거나 이로 구성되는 핵산 서열에 의해 인코딩된 적어도 하나의 에피토프에 결합한다.
- [0225] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 23 또는 이의 단편의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 또는 47개의 아미노산: 또는 서열번호 23 또는 이의 단편과 적어도 약 70%, 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일성을 공유하는 서열을 포함하거나 이로 구성되는 적어도 하나의 에피토프에 결합한다.
- [0226] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 23 또는 이의 단편의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 또는 47개의 연속 아미노산: 또는 서열번호 23 또는 이의 단편과 적어도 약 70%, 바람직하게는 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일성을 공유하는 서열을 포함하거나 이로 구성되는 적어도 하나의 에피토프에 결합한다.
- [0227] 하나의 구현예에서, 서열번호 23을 포함하거나 이로 구성되는 적어도 하나의 에피토프의 단편은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 또는 47개의 아미노산 잔기를 포함하거나 이로 구성된다.
- [0228] 하나의 구현예에서, 서열번호 23을 포함하거나 이로 구성되는 적어도 하나의 에피토프의 단편은 서열번호 23을 포함하거나 이로 구성되는 서열의 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000, 1010, 1020, 1030, 1040, 1050, 1060, 1070, 1080, 1090, 1100개 이상의 연속 아미노산 잔기의 스펠에 걸쳐 확산되는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 또는 47개의 아미노산 잔기를 포함하거나 이로 구성된다.
- [0229] 하나의 구현예에서, 서열번호 23을 포함하는 서열은 UniProt 수탁번호 P08575-3(버전 3, 2018년 3월 28일 변경됨 - 검사 합계: 6E942E2BF6B17AC5)에 상응하는 서열번호 99에 제시된 hCD45의 서열이다.

서열번호 99 (여기서, 서열번호 23은 밑줄친다)

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVPLSSDPLPHTT
TAFSPASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSLNASAFNTTGVSSVQTPHLP
THADSQTPSAGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDVPGERSTASTFPTDPVSP
LTTTLSLAHHSSAALPARTSNTTITANTSDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTTIATT
PSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTE
CKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIET
FTCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKII
KTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKN
LIKDYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTV
SMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQ
YSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKI
YDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEGRFL
AEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYIN
ASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGRNKNK
AEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQF
TSWPDHGVPEDPHLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRGTGTYIGIDAML
EGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNL
SELHPYLHNMKKRDPPEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSN
VIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPE
VMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKQT
YGDIEVDLKDTSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPK
ELISMIQVVKQKLPQKNSSEGKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAE
TEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKKNNHQE
DKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNG
PASPALNQGS

[0230]

[0231]

하나의 구현예에서, 서열번호 23을 포함하는 서열은 UniProt 수탁번호P08575-10(버전 10, 2018년 3월 28일 변경됨 - 검사 합계: F92C874C9A114890)에 상응하는 서열번호 104에 제시된 hCD45RC의 서열이다.

서열번호 104 (여기서, 서열번호 23은 밑줄친다)

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTSPSTDVPGERSTASTFPTDPVSPLTT
TLSLAHSSAALPARTSNTTITANTSDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATTPSK
 PTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECK
 NASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFT
 CDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKT
 DFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIK
 YDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSM
 TSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYS
 TDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYD
 LHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEGRLFLAEF
 QSIPRVFSKFPKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINASYI
 DGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGRNRNKCAEY
 WPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTS
 WPDHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDAMLEG
 LEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVLNLE
 LHPYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVI
 PYDYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVM
 IAAQGPKETIGDFWQMIFQRKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGD
 IEVDLKDSTDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELIS
 MIQVVKQKLPQKNSSEGKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEE
 VVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKKNNHQEDKI
 EFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNGPAS
 PALNQGS

[0232]

[0233]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45의 엑손 4에 의해 인코딩된 A 결정인자에 결합하지 않는다. 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45의 엑손 4에 의해 인코딩된 A 결정인자 상의 적어도 하나의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0234]

하나의 구현예에서, hCD45의 엑손 4에 의해 인코딩된 A 결정인자의 아미노산 서열은 서열번호 105를 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 105

GLTTAKMPSVPLSSDPLPHTHTTAFSPASTFERENDFSETTTLSPDNTSTQVSPDS
 LDNASAFNTT

[0235]

[0236]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45의 엑손 5에 의해 인코딩된 B 결정인자에 결합하지 않는다. 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45의 엑손 5에 의해 인코딩된 B 결정인자 상의 적어도 하나의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0237]

하나의 구현예에서, hCD45의 엑손 5에 의해 인코딩된 B 결정인자의 아미노산 서열은 서열번호 106을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 106

GVSSVQTPHLPHTHADSQTPTSAGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAIS

[0238]

[0239]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45RA에 결합하지 않는다. 하나의 구현예에서, 항체 또는

이의 결합 단편은 hCD45RA의 적어도 하나의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0240]

하나의 구현예에서, hCD45RA의 아미노산 서열은 UniProt 수탁번호 P08575-8(버전 8, 2018년 3월 28일 변경됨 - 검사 합계: F42C1FEC9EDE4BC0)에 상응하는 서열번호 107을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 107

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVPLSSDPLPHTT
TAFSPASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSLNASAFNTTDAYLNASETT
TLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVE
CGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQ
VEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKC
DSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFT
LCYIKETEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMC
HFTTKSAPPSQVWNMTVSMSTSDNSMHVKCRPPDRNGPHERYHLEVEAGNTL
VRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAF
LAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADI
LLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPKEARKPFNQKNRYVDILPYDYN
RVELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKAT
VIVMVTRC EEGNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNI
VNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHC
SAGVGRTGTYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIH
QALVEYNQFGETEVLSELHPYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQ
HIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSDEEP
SKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHG
DQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDLKD TDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQY
QYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKL PQKNSSEGKHHKSTPLLIHCRDGSQ
QTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIAS
YPAQNGQVKKNH QEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEG
SEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQS

[0241]

[0242]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45RB에 결합하지 않는다. 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45RB의 적어도 하나의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0243]

하나의 구현예에서, hCD45RB의 아미노산 서열은 UniProt 수탁번호 P08575-9(버전 9, 2018년 3월 28일 변경됨 - 검사 합계: 745870037910C575)에 상응하는 서열번호 108을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 108

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGVSSVQTPHLPTHADSQTPSA
GTDQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATTPS
KPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTEC
KNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETF
TCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIHK
TDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLI
KYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVS
MTSDNSMHVKCRPPDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQY
STDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIY
DLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEGRFLAE
FQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINAS
YIDGFKPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMWEQKATVIVMVTRCEEGRNRNKCA
EYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFT
SWPDHGVPEDPHLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDAMLE
GLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLS
ELHPYLHNMKKRDPPEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNV
IPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEV
MIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKGQTY
GDIEVDLKDSDKSSTYTLRVFELRHRSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKE
LISMIQVVKQKLQKNSSEGKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAET
EEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKKNNHQE
DKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNG
PASPALNQGS

[0244]

[0245]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45RAB에 결합하지 않는다. 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45RAB의 적어도 하나의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0246]

하나의 구현예에서, hCD45RAB의 아미노산 서열은 UniProt 수탁번호 P08575-5(버전 5, 2018년 3월 28일 변경됨 - 검사 합계: EA40BE995CD98F7C)에 상응하는 서열번호 109를 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 109

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVPLSSDPLPHTHT
TAFSPASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSLNDNASAFNTTGVSSTVQTPHLP
THADSQTPSAGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDAYLNASETTTLSPSGSAV
ISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTN
NEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVVEKFQLHDCTQVEKADTTI
CLKWKNIETFTCDTQNTYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNH
KFTNASKIIKTDGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEK
DCLNLDKNLIKYLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPS
QVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNC
DFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIA
LLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIA
DEGRFLAEFQSIPRVFSKFPKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGD
AGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDEFWRMIWEQKATVIVMVTRCE
EGNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATG
REVTHIQFTSWPDHGVDPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGT
YIGIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQ
FGETEVNLSLHPYLHNMMKKRDPPEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEEN
KSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFI
MSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQY
WGEGKQTYGDIEVDLKDSDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSV
EQLPAEPKELISMIQVVKQLPQKNSSEGKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCAL
LNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQ
VKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTE
GPEHSVNGPASPALNQGS

[0247]

[0248]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45R0에 결합하지 않는다. 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 hCD45R0의 적어도 하나의 에피토프에 결합하지 않는다.

[0249]

하나의 구현예에서, hCD45R0의 아미노산 서열은 UniProt 수탁번호 P08575-4(버전 4, 2018년 3월 28일 변경됨 - 검사 합계: D3CB364EF4243384)에 상응하는 서열번호 110을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 110

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTDAYLNASETTTLSPSGSAVIST
TTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEV
HNLTECKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLK
WKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFT
NASKIIKTDGFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCL
NLDKNLIKDYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQV
WNMTVSMTSDNSMHVKCRPPDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDF
RVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIAL
VVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADE
GRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAG
SNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEE
NRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGRE
VTHIQFTSWPDHGVDPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGT
YI
GIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFG
ETEVNLSLHPYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKS
KNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMS
YWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWG
EGKQTYGDIEVDLKDTSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQL
PAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNL
LESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKK
NNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCNVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPE
HSVNGPASPALNQGS

- [0250]
- [0251] 하나의 구현예에서, 적어도 하나의 에피토프는 배좌 에피토프이다. 다른 구현예에서, 적어도 하나의 에피토프는 순차적 에피토프이다.
- [0252] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 약 5×10^{-7} M 이하, 바람직하게는 약 2.5×10^{-7} M 이하, 약 1×10^{-7} M 이하, 약 7.5×10^{-8} M 이하, 약 5×10^{-8} M 이하, 약 1×10^{-8} M 이하의 평형 해리 상수(K_d)로 hCD45RC에 결합한다.
- [0253] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 약 1×10^4 M⁻¹sec⁻¹ 이상, 바람직하게는 약 5×10^4 M⁻¹sec⁻¹ 이상, 약 1×10^5 M⁻¹sec⁻¹ 이상, 약 2.5×10^5 M⁻¹sec⁻¹ 이상, 약 5×10^5 M⁻¹sec⁻¹ 이상의 결합률(K_{on})로 hCD45RC에 결합한다.
- [0254] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 약 5×10^{-2} sec⁻¹ 이하, 바람직하게는 약 4×10^{-2} sec⁻¹ 이하, 약 3×10^{-2} sec⁻¹ 이하, 약 2×10^{-2} sec⁻¹ 이하, 약 1.5×10^{-2} sec⁻¹ 이하의 해리율(K_{off})로 hCD45RC에 결합한다.
- [0255] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 중 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개로 hCD45RC에 결합한다:
- [0256] - 약 5×10^{-7} M 이하, 바람직하게는 약 2.5×10^{-7} M 이하, 약 1×10^{-7} M 이하, 약 7.5×10^{-8} M 이하, 약 5×10^{-8} M 이하, 약 1×10^{-8} M 이하의 평형 해리 상수(K_d);
- [0257] - 약 1×10^4 M⁻¹sec⁻¹ 이상, 바람직하게는 약 5×10^4 M⁻¹sec⁻¹ 이상, 약 1×10^5 M⁻¹sec⁻¹ 이상, 약 2.5×10^5 M⁻¹sec⁻¹ 이상,

약 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 이상의 결합률(K_{on}); 및

- [0258] - 약 $5 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$ 이하, 바람직하게는 약 $4 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$ 이하, 약 $3 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$ 이하, 약 $2 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$ 이하, 약 $1.5 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$ 이하의 해리율(K_{off}).
- [0259] 이의 리간드에 대한 항체 또는 이의 결합 단편의 친화성을 결정하기 위한(예를 들어, K_d , k_{off} 및 k_{on} 을 결정함을 포함) 방법은 당업계에 익히 공지되어 있고, 제한 없이, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 형광 활성화 세포 분류(FACS), 효소-결합 면역 흡착 검정(ELISA), AlphaLISA 및 KinExA를 포함한다.
- [0260] 바람직한 방법은 BIAcore®이고, 이는 항체 또는 이의 결합 단편의 친화성을 결정하기 위해 고정된 CD45RC를 사용하는 SPR에 의존한다. 이 방법을 구현하는 방법은 실시예 섹션에서 추가로 예시될 것이다.
- [0261] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 폴리클로날 항체 또는 이의 결합 단편이다.
- [0262] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 모노클로날 항체 또는 이의 결합 단편이다.
- [0263] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 전체 항체, 단일쇄 항체, 이량체성 단일쇄 항체, 단일도메인 항체, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fd, 탈푸코실화 항체, 이중특이적 항체, 디아바디, 트리아바디 및 테트라바디를 포함하거나 이로 구성되는 그룹으로부터 선택된 분자이다.
- [0264] 항체 결합 단편은 표준 방법을 사용하여 수득될 수 있다. 예를 들어, Fab 또는 F(ab')₂ 단편은 통상의 기술에 따라 단리된 항체의 프로테아제 소화에 의해 생성될 수 있다. 또한, 항체 또는 이의 결합 단편이 공지된 방법을 사용하여 변형될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 생체내 클리어런스를 낮추고 더 바람직한 약동학적 프로파일을 수득하기 위해, 항체 또는 이의 결합 단편은 폴리에틸렌 글리콜(PEG)로 변형될 수 있다. 항체 또는 이의 결합 단편에 PEG를 결합하고 부위 특이적으로 접합시키기 위한 방법은, 예를 들어, 문헌[참조: Leong *et al.*, 2001. *Cytokine*. 16(3):106-19; Delgado *et al.*, 1996. *Br J Cancer*. 73(2):175-82]에 기재되어 있다.
- [0265] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 유니바디, 도메인 항체, 및 나노바디를 포함하거나 이들로 구성된 그룹으로부터 선택된 분자이다.
- [0266] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 아피바디, 아필린, 아피틴, 애드넥틴, 아트림머, 에바신, DARPin, 안티칼린, 아비머, 피노머, 베르사바디 및 듀오칼린을 포함하거나 이들로 구성된 그룹으로부터 선택된 모방체이다.
- [0267] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 또한 다중특이적 항체 또는 이의 결합 단편을 포함하고, 즉 하나 이상의, 예를 들어, 적어도 2개의 상이한 항원에 대해 면역특이적이고, 이중 하나는 본 발명에 따르는 hCD45RC이다.
- [0268] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 또한 동일하든 상이하든, 직접 또는 간접적으로 함께 공유결합되든 항체 또는 이의 결합 단편, 즉 1개 이상, 예를 들어, 적어도 2개의 항체 또는 이의 결합 단편의 중합체를 포함한다.
- [0269] 다음에서, 그리고 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, CDR 넘버링 및 정의는 카바트/초티아 정의에 따른다.
- [0270] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 V_H로서 약칭됨)을 포함한다:
- [0271] V_H-CDR1: NYYIG (식별번호 1);
- [0272] V_H-CDR2: X₁-IF-X₂-GG-X₃-Y-X₄-N-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-G (식별번호 2); 및
- [0273] V_H-CDR3: RNFDY (식별번호 3),
- [0274] 여기서,
- [0275] X₁은 Asp (D), Ile (I) 및 Arg (R)로부터 선택되고;

- [0276] X_2 는 Pro (P) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0277] X_3 은 Asp (D), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0278] X_4 는 Ala (A) 및 Thr (T)로부터 선택되고;
- [0279] X_5 는 Ser (S) 및 Tyr (Y)로부터 선택되고;
- [0280] X_6 은 Asn (N), Ala (A) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0281] X_7 은 Glu (E), Asp (D), Pro (P) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0282] X_8 은 Lys (K) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0283] X_9 는 Phe (F) 및 Val (V)로부터 선택되고;
- [0284] X_{10} 은 Lys (K) 및 Gln (Q)로부터 선택된다.
- [0285] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 DIFPGGDYANSNEKFKG와 함께 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0286] **V_H-CDR1**: NYIIG (서열번호 1);
- [0287] **V_H-CDR2**: X_1 -IF- X_2 -GG- X_3 -Y- X_4 -N- X_5 - X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} -G (서열번호 2); 및
- [0288] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3),
- [0289] 여기서,
- [0290] X_1 은 Asp (D), Ile (I) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0291] X_2 는 Pro (P) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0292] X_3 은 Asp (D), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0293] X_4 는 Ala (A) 및 Thr (T)로부터 선택되고;
- [0294] X_5 는 Ser (S) 및 Tyr (Y)로부터 선택되고;
- [0295] X_6 은 Asn (N), Ala (A) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0296] X_7 은 Glu (E), Asp (D), Pro (P) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0297] X_8 은 Lys (K) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0298] X_9 는 Phe (F) 및 Val (V)로부터 선택되고;
- [0299] X_{10} 은 Lys (K) 및 Gln (Q)로부터 선택된다.
- [0300] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0301] **V_H-CDR1**: NYIIG (서열번호 1);
- [0302] **V_H-CDR2**: DIFPGGDYANSNEKFKG (서열번호 4); 및
- [0303] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3).
- [0304] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

- [0305] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0306] V_H -CDR2: DIFPGGDYANSNEKFKG (서열번호 4); 및
- [0307] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0308] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0309] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0310] V_H -CDR2: DIFPGGDYANSNEKVKG (서열번호 5); 및
- [0311] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0312] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0313] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0314] V_H -CDR2: DIFPGGDYANSNEKVKG (서열번호 5); 및
- [0315] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0316] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0317] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0318] V_H -CDR2: DIFPGGGYTNIAEKFAQ (서열번호 6); 및
- [0319] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0320] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0321] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0322] V_H -CDR2: DIFPGGGYTNIAEKFAQ (서열번호 6); 및
- [0323] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0324] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0325] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0326] V_H -CDR2: DIFPGGSYTNYESFAQ (서열번호 7); 및
- [0327] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0328] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0329] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0330] V_H -CDR2: DIFPGGSYTNYESFAQ (서열번호 7); 및
- [0331] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0332] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0333] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);

- [0334] **V_H-CDR2**: DIFPGGSYTNYSVKG (서열번호 8); 및
- [0335] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3).
- [0336] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0337] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0338] **V_H-CDR2**: DIFPGGSYTNYSVKG (서열번호 8); 및
- [0339] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3).
- [0340] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0341] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0342] **V_H-CDR2**: RIFPGGGYTNYSQKFQG (서열번호 9); 및
- [0343] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3).
- [0344] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0345] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0346] **V_H-CDR2**: RIFPGGGYTNYSQKFQG (서열번호 9); 및
- [0347] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3).
- [0348] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0349] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0350] **V_H-CDR2**: IIFPGGSYTNYSQSFQG (서열번호 10); 및
- [0351] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3).
- [0352] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0353] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0354] **V_H-CDR2**: IIFPGGSYTNYSQSFQG (서열번호 10); 및
- [0355] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3).
- [0356] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0357] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0358] **V_H-CDR2**: DIFSGGSYTNYSVKG (서열번호 11); 및
- [0359] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3).
- [0360] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0361] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0362] **V_H-CDR2**: DIFSGGSYTNYSVKG (서열번호 11); 및

- [0363] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0364] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0365] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0366] V_H -CDR2: DIFPGGDYTNIAEKFQG (서열번호 100); 및
- [0367] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0368] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0369] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0370] V_H -CDR2: DIFPGGDYTNIAEKFQG (서열번호 100); 및
- [0371] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0372] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0373] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0374] V_H -CDR2: DIFPGGGYANYAEKFQG (서열번호 116); 및
- [0375] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0376] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0377] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0378] V_H -CDR2: DIFPGGGYANYAEKFQG (서열번호 116); 및
- [0379] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0380] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0381] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0382] V_H -CDR2: DIFPGGGYTNIAEKFQG (서열번호 117); 및
- [0383] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0384] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0385] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0386] V_H -CDR2: DIFPGGGYTNIAEKFQG (서열번호 117); 및
- [0387] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0388] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0389] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0390] V_H -CDR2: DIFPGGGYTNINEKFQG (서열번호 118); 및
- [0391] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).

- [0392] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0393] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0394] V_H -CDR2: DIFPGGGYTNYNEKFQG (서열번호 118); 및
- [0395] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0396] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0397] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0398] V_H -CDR2: DIFPGGGYTNSAEKFQG (서열번호 119); 및
- [0399] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0400] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0401] V_H -CDR1: NYYIG (서열번호 1);
- [0402] V_H -CDR2: DIFPGGGYTNSAEKFQG (서열번호 119); 및
- [0403] V_H -CDR3: RNFDY (서열번호 3).
- [0404] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 V_L 로서 약칭됨)을 포함한다:
- [0405] V_L -CDR1: X_{11} -ASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 12);
- [0406] V_L -CDR2: X_{13} -TSN- X_{14} - X_{15} - X_{16} (서열번호 13); 및
- [0407] V_L -CDR3: X_{17} -QRSSYPLTF (서열번호 14),
- [0408] 여기서,
- [0409] X_{11} 은 Ser (S) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0410] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0411] X_{13} 은 Asn (N) 및 Ala (A)로부터 선택되거나; X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이고;
- [0412] X_{14} 는 Leu (L), Ser (S) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0413] X_{15} 는 Pro (P), Ala (A) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0414] X_{16} 은 Ser (S) 및 Thr (T)로부터 선택되고;
- [0415] X_{17} 은 Gln (Q) 및 His (H)로부터 선택된다.
- [0416] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0417] V_L -CDR1: X_{11} -ASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 12);
- [0418] V_L -CDR2: X_{13} -TSN- X_{14} - X_{15} - X_{16} (서열번호 13); 및
- [0419] V_L -CDR3: X_{17} -QRSSYPLTF (서열번호 14),
- [0420] 여기서,
- [0421] X_{11} 은 Ser (S) 및 Arg (R)로부터 선택되고;

- [0422] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0423] X_{13} 은 Asn (N) 및 Ala (A)로부터 선택되거나; X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이고;
- [0424] X_{14} 는 Leu (L), Ser (S) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0425] X_{15} 는 Pro (P), Ala (A) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0426] X_{16} 은 Ser (S) 및 Thr (T)로부터 선택되고;
- [0427] X_{17} 은 Gln (Q) 및 His (H)로부터 선택된다.
- [0428] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0429] **V_L-CDR1**: X_{11} -ASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 12);
- [0430] **V_L-CDR2**: X_{13} -TSN- X_{14} - X_{15} - X_{16} (서열번호 13); 및
- [0431] **V_L-CDR3**: X_{17} -QRSSYP LTF (서열번호 14),
- [0432] 여기서,
- [0433] X_{11} 은 Ser (S)이고;
- [0434] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0435] X_{13} 은 Asn (N)이거나; X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이고;
- [0436] X_{14} 는 Leu (L)이고;
- [0437] X_{15} 는 Pro (P)이고;
- [0438] X_{16} 은 Ser (S)이고;
- [0439] X_{17} 은 Gln (Q)이다.
- [0440] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0441] **V_L-CDR1**: X_{11} -ASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 12);
- [0442] **V_L-CDR2**: X_{13} -TSN- X_{14} - X_{15} - X_{16} (서열번호 13); 및
- [0443] **V_L-CDR3**: X_{17} -QRSSYP LTF (서열번호 14),
- [0444] 여기서,
- [0445] X_{11} 은 Ser (S)이고;
- [0446] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0447] X_{13} 은 Asn (N)이거나; X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이고;
- [0448] X_{14} 는 Leu (L)이고;
- [0449] X_{15} 는 Pro (P)이고;
- [0450] X_{16} 은 Ser (S)이고;
- [0451] X_{17} 은 Gln (Q)이다.

- [0452] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0453] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0454] V_L -CDR2: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0455] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0456] 여기서,
- [0457] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0458] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0459] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0460] V_L -CDR2: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0461] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0462] 여기서,
- [0463] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0464] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0465] V_L -CDR1: SASSSVSYMH (서열번호 15);
- [0466] V_L -CDR2: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0467] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0468] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0469] V_L -CDR1: SASSSVSYMH (서열번호 15);
- [0470] V_L -CDR2: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0471] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0472] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0473] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0474] V_L -CDR2: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0475] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0476] 여기서,
- [0477] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0478] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0479] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0480] V_L -CDR2: NTSNLPS (서열번호 16); 및

- [0481] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0482] 여기서,
- [0483] X₁₂는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0484] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0485] **V_L-CDR1**: RASSSVS-X₁₂-YMH (서열번호 18);
- [0486] **V_L-CDR2**: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0487] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0488] 여기서,
- [0489] X₁₂는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0490] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0491] **V_L-CDR1**: RASSSVS-X₁₂-YMH (서열번호 18);
- [0492] **V_L-CDR2**: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0493] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0494] 여기서,
- [0495] X₁₂는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0496] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0497] **V_L-CDR1**: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0498] **V_L-CDR2**: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0499] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0500] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0501] **V_L-CDR1**: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0502] **V_L-CDR2**: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0503] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0504] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0505] **V_L-CDR1**: RASSSVS-X₁₂-YMH (서열번호 18);
- [0506] **V_L-CDR2**: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0507] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0508] 여기서,
- [0509] X₁₂는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0510] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:

- [0511] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0512] V_L -CDR2: NTSNLPS (서열번호 16); 및
- [0513] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),
- [0514] 여기서,
- [0515] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0516] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0517] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0518] V_L -CDR2: NTSNPS (서열번호 19); 및
- [0519] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),
- [0520] 여기서,
- [0521] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0522] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0523] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0524] V_L -CDR2: NTSNPS (서열번호 19); 및
- [0525] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),
- [0526] 여기서,
- [0527] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0528] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0529] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0530] V_L -CDR2: NTSNPS (서열번호 19); 및
- [0531] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17).
- [0532] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0533] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0534] V_L -CDR2: NTSNPS (서열번호 19); 및
- [0535] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17).
- [0536] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0537] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0538] V_L -CDR2: NTSNPS (서열번호 19); 및
- [0539] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),

- [0540] 여기서,
- [0541] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0542] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0543] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0544] V_L -CDR2: NTSNSPS (서열번호 19); 및
- [0545] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),
- [0546] 여기서,
- [0547] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0548] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0549] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0550] V_L -CDR2: ATSNLQS (서열번호 20); 및
- [0551] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),
- [0552] 여기서,
- [0553] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0554] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0555] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0556] V_L -CDR2: ATSNLQS (서열번호 20); 및
- [0557] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),
- [0558] 여기서,
- [0559] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0560] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0561] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0562] V_L -CDR2: ATSNLQS (서열번호 20); 및
- [0563] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17).
- [0564] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0565] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0566] V_L -CDR2: ATSNLQS (서열번호 20); 및
- [0567] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17).
- [0568] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0569] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);

- [0570] V_L -CDR2: ATSNLQS (서열번호 20); 및
- [0571] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),
- [0572] 여기서,
- [0573] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0574] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0575] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0576] V_L -CDR2: ATSNLQS (서열번호 20); 및
- [0577] V_L -CDR3: QQRSSYP LTF (서열번호 17),
- [0578] 여기서,
- [0579] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0580] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0581] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0582] V_L -CDR2: NTSNSPS (서열번호 19); 및
- [0583] V_L -CDR3: HQRSSYP LTF (서열번호 21),
- [0584] 여기서,
- [0585] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0586] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0587] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0588] V_L -CDR2: NTSNSPS (서열번호 19); 및
- [0589] V_L -CDR3: HQRSSYP LTF (서열번호 21),
- [0590] 여기서,
- [0591] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0592] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0593] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0594] V_L -CDR2: NTSNSPS (서열번호 19); 및
- [0595] V_L -CDR3: HQRSSYP LTF (서열번호 21).
- [0596] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0597] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0598] V_L -CDR2: NTSNSPS (서열번호 19); 및
- [0599] V_L -CDR3: HQRSSYP LTF (서열번호 21).

- [0600] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0601] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0602] V_L -CDR2: NTSNSPS (서열번호 19); 및
- [0603] V_L -CDR3: HQRSSYPLTF (서열번호 21),
- [0604] 여기서,
- [0605] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0606] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0607] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0608] V_L -CDR2: NTSNSPS (서열번호 19); 및
- [0609] V_L -CDR3: HQRSSYPLTF (서열번호 21),
- [0610] 여기서,
- [0611] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0612] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0613] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0614] V_L -CDR2: NTSNRAT (서열번호 22); 및
- [0615] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0616] 여기서,
- [0617] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0618] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0619] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0620] V_L -CDR2: NTSNRAT (서열번호 22); 및
- [0621] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0622] 여기서,
- [0623] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0624] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0625] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0626] V_L -CDR2: NTSNRAT (서열번호 22); 및
- [0627] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0628] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0629] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);

- [0630] V_L -CDR2: NTSNRAT (서열번호 22); 및
- [0631] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0632] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0633] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0634] V_L -CDR2: NTSNRAT (서열번호 22); 및
- [0635] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0636] 여기서,
- [0637] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0638] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0639] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0640] V_L -CDR2: NTSNRAT (서열번호 22); 및
- [0641] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0642] 여기서,
- [0643] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0644] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0645] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0646] V_L -CDR2: ATSNLPS (서열번호 111); 및
- [0647] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0648] 여기서,
- [0649] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0650] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0651] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0652] V_L -CDR2: ATSNLPS (서열번호 111); 및
- [0653] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0654] 여기서,
- [0655] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0656] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0657] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0658] V_L -CDR2: ATSNLPS (서열번호 111); 및

- [0659] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0660] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0661] V_L -CDR1: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0662] V_L -CDR2: ATSNLPS (서열번호 111); 및
- [0663] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0664] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0665] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0666] V_L -CDR2: ATSNLPS (서열번호 111); 및
- [0667] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0668] 여기서,
- [0669] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0670] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0671] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0672] V_L -CDR2: ATSNLPS (서열번호 111); 및
- [0673] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0674] 여기서,
- [0675] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0676] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0677] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0678] V_L -CDR2: NTANLPS (서열번호 120); 및
- [0679] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0680] 여기서,
- [0681] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0682] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0683] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0684] V_L -CDR2: NTANLPS (서열번호 120); 및
- [0685] V_L -CDR3: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0686] 여기서,
- [0687] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0688] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR을 포함한다:

- [0689] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0690] V_L -CDR2: NTANLPS (서열번호 120); 및
- [0691] V_L -CDR3: QQRSSYPPLTF (서열번호 17).
- [0692] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0693] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0694] V_L -CDR2: NTANLPS (서열번호 120); 및
- [0695] V_L -CDR3: QQRSSYPPLTF (서열번호 17).
- [0696] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0697] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0698] V_L -CDR2: NTANLPS (서열번호 120); 및
- [0699] V_L -CDR3: QQRSSYPPLTF (서열번호 17),
- [0700] 여기서,
- [0701] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0702] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0703] V_L -CDR1: SASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 15);
- [0704] V_L -CDR2: NTANLPS (서열번호 120); 및
- [0705] V_L -CDR3: QQRSSYPPLTF (서열번호 17),
- [0706] 여기서,
- [0707] X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [0708] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0709] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0710] V_L -CDR2: X_{13} -TSNLPS (서열번호 127); 및
- [0711] V_L -CDR3: QQRSSYPPLTF (서열번호 17),
- [0712] 여기서,
- [0713] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고,
- [0714] X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이다.
- [0715] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0716] V_L -CDR1: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0717] V_L -CDR2: X_{13} -TSNLPS (서열번호 127); 및
- [0718] V_L -CDR3: QQRSSYPPLTF (서열번호 17),

- [0719] 여기서,
- [0720] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고,
- [0721] X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이다.
- [0722] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0723] **V_L-CDR1**: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0724] **V_L-CDR2**: X_{13} -TSNLPS (서열번호 127); 및
- [0725] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0726] 여기서,
- [0727] X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이다.
- [0728] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0729] **V_L-CDR1**: RASSSVSYMH (서열번호 18);
- [0730] **V_L-CDR2**: X_{13} -TSNLPS (서열번호 127); 및
- [0731] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17).
- [0732] 여기서,
- [0733] X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이다.
- [0734] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0735] **V_L-CDR1**: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0736] **V_L-CDR2**: X_{13} -TSNLPS (서열번호 127); 및
- [0737] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0738] 여기서,
- [0739] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고,
- [0740] X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이다.
- [0741] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCV를 포함한다:
- [0742] **V_L-CDR1**: RASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 18);
- [0743] **V_L-CDR2**: X_{13} -TSNLPS (서열번호 127); 및
- [0744] **V_L-CDR3**: QQRSSYPLTF (서열번호 17),
- [0745] 여기서,
- [0746] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고,
- [0747] X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이다.
- [0748] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:

- [0749] - 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0750] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0751] **V_H-CDR2**: X₁-IF-X₂-GG-X₃-Y-X₄-N-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-G (서열번호 2); 및
- [0752] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3); 및
- [0753] - 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0754] **V_L-CDR1**: X₁₁-ASSSVS-X₁₂-YMH (서열번호 12);
- [0755] **V_L-CDR2**: X₁₃-TSN-X₁₄-X₁₅-X₁₆ (서열번호 13); 및
- [0756] **V_L-CDR3**: X₁₇-QRSSYPLTF (서열번호 14),
- [0757] 여기서,
- [0758] X₁은 Asp (D), Ile (I) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0759] X₂는 Pro (P) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0760] X₃은 Asp (D), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0761] X₄는 Ala (A) 및 Thr (T)로부터 선택되고;
- [0762] X₅는 Ser (S) 및 Tyr (Y)로부터 선택되고;
- [0763] X₆은 Asn (N), Ala (A) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0764] X₇은 Glu (E), Asp (D), Pro (P) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0765] X₈은 Lys (K) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0766] X₉는 Phe (F) 및 Val (V)로부터 선택되고;
- [0767] X₁₀은 Lys (K) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0768] X₁₁은 Ser (S) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0769] X₁₂는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0770] X₁₃은 Asn (N) 및 Ala (A)로부터 선택되거나; X₁₃은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이고;
- [0771] X₁₄는 Leu (L), Ser (S) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0772] X₁₅는 Pro (P), Ala (A) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0773] X₁₆은 Ser (S) 및 Thr (T)로부터 선택되고;
- [0774] X₁₇은 Gln (Q) 및 His (H)로부터 선택된다.
- [0775] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:
- [0776] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0777] **V_H-CDR1**: NYYIG (서열번호 1);
- [0778] **V_H-CDR2**: X₁-IF-X₂-GG-X₃-Y-X₄-N-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-G (서열번호 2); 및
- [0779] **V_H-CDR3**: RNFDY (서열번호 3); 및

- [0780] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0781] V_L -CDR1: X_{11} -ASSSVS- X_{12} -YMH (서열번호 12);
- [0782] V_L -CDR2: X_{13} -TSN- X_{14} - X_{15} - X_{16} (서열번호 13); 및
- [0783] V_L -CDR3: X_{17} -QRSSYPLTF (서열번호 14),
- [0784] 여기서,
- [0785] X_1 은 Asp (D), Ile (I) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0786] X_2 는 Pro (P) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0787] X_3 은 Asp (D), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0788] X_4 는 Ala (A) 및 Thr (T)로부터 선택되고;
- [0789] X_5 는 Ser (S) 및 Tyr (Y)로부터 선택되고;
- [0790] X_6 은 Asn (N), Ala (A) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0791] X_7 은 Glu (E), Asp (D), Pro (P) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0792] X_8 은 Lys (K) 및 Ser (S)로부터 선택되고;
- [0793] X_9 는 Phe (F) 및 Val (V)로부터 선택되고;
- [0794] X_{10} 은 Lys (K) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0795] X_{11} 은 Ser (S) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0796] X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고;
- [0797] X_{13} 은 Asn (N) 및 Ala (A)로부터 선택되거나; X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이고;
- [0798] X_{14} 는 Leu (L), Ser (S) 및 Arg (R)로부터 선택되고;
- [0799] X_{15} 는 Pro (P), Ala (A) 및 Gln (Q)로부터 선택되고;
- [0800] X_{16} 은 Ser (S) 및 Thr (T)로부터 선택되고;
- [0801] X_{17} 은 Gln (Q) 및 His (H)로부터 선택된다.
- [0802] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같다.
- [0803] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같다.

표 2

HCVR 및 LCVR의 CDR의 바람직한 조합. CDR은 그들의 서열번호로 정의된다(여기서, 적용 가능한 경우, X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고; X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이다).

CDR의 조합 #	V _H - CDR1	V _H - CDR2	V _H - CDR3	V _L - CDR1	V _L - CDR2	V _L -CDR3
#1	1	4	3	15	16	17
#2	1	4	3	18	16	17
#3	1	4	3	18	19	17
#4	1	4	3	18	20	17
#5	1	4	3	18	19	21
#6	1	4	3	18	22	17
#7	1	5	3	15	16	17
#8	1	5	3	18	16	17
#9	1	5	3	18	19	17
#10	1	5	3	18	20	17
#11	1	5	3	18	19	21
#12	1	5	3	18	22	17
#13	1	6	3	15	16	17
#14	1	6	3	18	16	17
#15	1	6	3	18	19	17
#16	1	6	3	18	20	17
#17	1	6	3	18	19	21
#18	1	6	3	18	22	17
#19	1	7	3	15	16	17
#20	1	7	3	18	16	17
#21	1	7	3	18	19	17
#22	1	7	3	18	20	17
#23	1	7	3	18	19	21
#24	1	7	3	18	22	17
#25	1	8	3	15	16	17
#26	1	8	3	18	16	17
#27	1	8	3	18	19	17
#28	1	8	3	18	20	17
#29	1	8	3	18	19	21
#30	1	8	3	18	22	17
#31	1	9	3	15	16	17
#32	1	9	3	18	16	17
#33	1	9	3	18	19	17
#34	1	9	3	18	20	17
#35	1	9	3	18	19	21
#36	1	9	3	18	22	17
#37	1	10	3	15	16	17
#38	1	10	3	18	16	17
#39	1	10	3	18	19	17
#40	1	10	3	18	20	17

[0804]

#41	1	10	3	18	19	21
#42	1	10	3	18	22	17
#43	1	11	3	15	16	17
#44	1	11	3	18	16	17
#45	1	11	3	18	19	17
#46	1	11	3	18	20	17
#47	1	11	3	18	19	21
#48	1	11	3	18	22	17
#49	1	100	3	15	16	17
#50	1	100	3	18	16	17
#51	1	100	3	18	19	17
#52	1	100	3	18	20	17
#53	1	100	3	18	19	21
#54	1	100	3	18	22	17
#55	1	4	3	18	111	17
#56	1	5	3	18	111	17
#57	1	6	3	18	111	17
#58	1	7	3	18	111	17
#59	1	8	3	18	111	17
#60	1	9	3	18	111	17
#61	1	10	3	18	111	17
#62	1	11	3	18	111	17
#63	1	100	3	18	111	17
#64	1	116	3	15	16	17
#65	1	116	3	18	16	17
#66	1	116	3	18	19	17
#67	1	116	3	18	20	17
#68	1	116	3	18	19	21
#69	1	116	3	18	22	17
#70	1	116	3	18	111	17
#71	1	117	3	15	16	17
#72	1	117	3	18	16	17
#73	1	117	3	18	19	17
#74	1	117	3	18	20	17
#75	1	117	3	18	19	21
#76	1	117	3	18	22	17
#77	1	117	3	18	111	17
#78	1	118	3	15	16	17
#79	1	118	3	18	16	17
#80	1	118	3	18	19	17
#81	1	118	3	18	20	17
#82	1	118	3	18	19	21
#83	1	118	3	18	22	17
#84	1	118	3	18	111	17
#85	1	119	3	15	16	17
#86	1	119	3	18	16	17
#87	1	119	3	18	19	17

[0805]

#88	1	119	3	18	20	17
#89	1	119	3	18	19	21
#90	1	119	3	18	22	17
#91	1	119	3	18	111	17
#92	1	4	3	15	120	17
#93	1	5	3	15	120	17
#94	1	6	3	15	120	17
#95	1	7	3	15	120	17
#96	1	8	3	15	120	17
#97	1	9	3	15	120	17
#98	1	10	3	15	120	17
#99	1	11	3	15	120	17
#100	1	100	3	15	120	17
#101	1	116	3	15	120	17
#102	1	117	3	15	120	17
#103	1	118	3	15	120	17
#104	1	119	3	15	120	17
#105	1	4	3	15	127	17
#106	1	5	3	15	127	17
#107	1	6	3	15	127	17
#108	1	7	3	15	127	17
#109	1	8	3	15	127	17
#110	1	9	3	15	127	17
#111	1	10	3	15	127	17
#112	1	11	3	15	127	17
#113	1	100	3	15	127	17
#114	1	116	3	15	127	17
#115	1	117	3	15	127	17
#116	1	118	3	15	127	17
#117	1	119	3	15	127	17

[0806]

- [0807] 하나의 구현예에서, 상기 정의된 바와 같은 임의의 V_H -CDR1, V_H -CDR2, V_H -CDR3, V_L -CDR1, V_L -CDR2 및/또는 V_L -CDR3은 상이한 아미노산에 의해 치환되는 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 아미노산을 갖는 것으로 특성화될 수 있다.
- [0808] 하나의 구현예에서, 상기 정의된 바와 같은 임의의 V_H -CDR1, V_H -CDR2, V_H -CDR3, V_L -CDR1, V_L -CDR2 및/또는 V_L -CDR3은 상기 정의된 바와 같은 특정 CDR 또는 CDR의 세트와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 아미노산 서열을 갖는 것으로 특성화될 수 있다.
- [0809] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #1, #2, #7, #14, #20, #26, #49, #50, #63, #65, #72, #79, #86 및 #92로부터 선택된다.
- [0810] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #1, #2, #7, #14, #20, #26, #49, #50, #63, #65, #72, #79, #86 및 #92로부터 선택된다.
- [0811] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:
- [0812] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0813] 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [0814] 서열번호 4, 5, 6, 7, 8, 100, 116, 117, 118 및 119의 서열을 포함하거나 이들로 구성되는 그룹으로부터 선택된 V_H -CDR2; 및
- [0815] 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [0816] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0817] 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하거나 이들로 구성되는 그룹으로부터 선택된 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다);
- [0818] 서열번호 16, 111 및 120의 서열을 포함하거나 이들로 구성되는 그룹으로부터 선택된 V_L -CDR2; 및
- [0819] 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [0820] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:
- [0821] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0822] 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [0823] 서열번호 4 및 5의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 그룹으로부터 선택된 V_H -CDR2; 및
- [0824] 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [0825] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0826] 서열번호 15의 서열의 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이거나 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다);
- [0827] 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [0828] 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [0829] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:
- [0830] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0831] 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;

- [0832] 서열번호 4, 5, 6 및 100의 서열을 포함하거나 이들로 구성되는 그룹으로부터 선택된 V_H -CDR2; 및
- [0833] 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [0834] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0835] 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하거나 이들로 구성되는 그룹으로부터 선택된 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이거나 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다);
- [0836] 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [0837] 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [0838] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:
- [0839] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [0840] 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [0841] 서열번호 4, 6 및 100의 서열을 포함하거나 이들로 구성되는 그룹으로부터 선택된 V_H -CDR2; 및
- [0842] 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [0843] - 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [0844] 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하거나 이들로 구성되는 그룹으로부터 선택된 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이거나 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다);
- [0845] 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [0846] 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [0847] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #1이다.
- [0848] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #1이다.
- [0849] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 4 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 15, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 15에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0850] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #2이다.
- [0851] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #2이다.
- [0852] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 4 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0853] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #7이다.
- [0854] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포

함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #7이다.

- [0855] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 5 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 15, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 15에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0856] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #14이다.
- [0857] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #14이다.
- [0858] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 6 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0859] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #20이다.
- [0860] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #20이다.
- [0861] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 7 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0862] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #26이다.
- [0863] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #26이다.
- [0864] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 8 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0865] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #49이다.
- [0866] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #49이다.
- [0867] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 100 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 15, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 15에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0868] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #50이다.
- [0869] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #50이다.

- [0870] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 100 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0871] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #63이다.
- [0872] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #63이다.
- [0873] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 100 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 111 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0874] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #65이다.
- [0875] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #65이다.
- [0876] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 116 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0877] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #72이다.
- [0878] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #72이다.
- [0879] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 117 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0880] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #79이다.
- [0881] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #79이다.
- [0882] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 118 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.
- [0883] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #86이다.
- [0884] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #86이다.
- [0885] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 119 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및

(ii) 서열번호 18, 16 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 18에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.

[0886] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #92이다.

[0887] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 3개의 HCVR의 CDR 및 (ii) 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 2에 정의된 바와 같은 조합 #92이다.

[0888] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 서열번호 1, 4 및 3으로서 제시된 3개의 HCVR의 CDR; 및 (ii) 서열번호 15, 120 및 17로서 제시된 3개의 LCVR의 CDR의 조합을 포함하고, 여기서 서열번호 15에서 X_{12} 는 부재이거나, Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{12} 는 부재이다.

[0889] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 프레임워크 영역(FR)을 포함하는 HCVR을 포함한다:

[0890] V_H -FR1: QVQLQQSGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTFT (서열번호 25);

[0891] V_H -FR2: WVKQRPGHGLEWIG (서열번호 26);

[0892] V_H -FR3: KATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCVR (서열번호 27);

[0893] V_H -FR4: WGQGTTLTVSS (서열번호 28).

[0894] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

[0895] V_H -FR1: QVQLQQSGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTFT (서열번호 25);

[0896] V_H -FR2: WVKQRPGHGLEWIG (서열번호 26);

[0897] V_H -FR3: KATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCVR (서열번호 27);

[0898] V_H -FR4: WGQGTTLTVSS (서열번호 28).

[0899] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

[0900] V_H -FR1: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (서열번호 29);

[0901] V_H -FR2: WVRQAPQGLEWIG (서열번호 30);

[0902] V_H -FR3: RVTLTADTSISTAYMELSRSDDTVVYYCVR (서열번호 31);

[0903] V_H -FR4: WGQGTTLTVSS (서열번호 32).

[0904] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

[0905] V_H -FR1: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (서열번호 29);

[0906] V_H -FR2: WVRQAPQGLEWIG (서열번호 30);

[0907] V_H -FR3: RVTLTADTSISTAYMELSRSDDTVVYYCVR (서열번호 31);

[0908] V_H -FR4: WGQGTTLTVSS (서열번호 32).

[0909] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

- [0910] **V_H-FR1:** EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYTFT (서열번호 33);
- [0911] **V_H-FR2:** WVRQMPGKGLEWIG (서열번호 34);
- [0912] **V_H-FR3:** QVTLSADKSISTAYLQLSSLKASDTAMYVCVR (서열번호 35);
- [0913] **V_H-FR4:** WGQGTLLTVSS (서열번호 32).
- [0914] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0915] **V_H-FR1:** EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYTFT (서열번호 33);
- [0916] **V_H-FR2:** WVRQMPGKGLEWIG (서열번호 34);
- [0917] **V_H-FR3:** QVTLSADKSISTAYLQLSSLKASDTAMYVCVR (서열번호 35);
- [0918] **V_H-FR4:** WGQGTLLTVSS (서열번호 32).
- [0919] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0920] **V_H-FR1:** QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYTFT (서열번호 36);
- [0921] **V_H-FR2:** WIRQAPGKGLEWIG (서열번호 37);
- [0922] **V_H-FR3:** RFTLSADTAKNLAYLQMNSLRAEDTAVYYCVR (서열번호 38);
- [0923] **V_H-FR4:** WGQGTLLTVSS (서열번호 32).
- [0924] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0925] **V_H-FR1:** QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYTFT (서열번호 36);
- [0926] **V_H-FR2:** WIRQAPGKGLEWIG (서열번호 37);
- [0927] **V_H-FR3:** RFTLSADTAKNLAYLQMNSLRAEDTAVYYCVR (서열번호 38);
- [0928] **V_H-FR4:** WGQGTLLTVSS (서열번호 32).
- [0929] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0930] **V_H-FR1:** EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFT (서열번호 39);
- [0931] **V_H-FR2:** WVRQMPGKGLEWIG (서열번호 34);
- [0932] **V_H-FR3:** QVTLSADKSISTAYLQLSSLKASDTAMYVCVR (서열번호 35);
- [0933] **V_H-FR4:** WGQGTLLTVSS (서열번호 32).
- [0934] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:
- [0935] **V_H-FR1:** EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFT (서열번호 39);
- [0936] **V_H-FR2:** WVRQMPGKGLEWIG (서열번호 34);
- [0937] **V_H-FR3:** QVTLSADKSISTAYLQLSSLKASDTAMYVCVR (서열번호 35);
- [0938] **V_H-FR4:** WGQGTLLTVSS (서열번호 32).
- [0939] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적

어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

V_H-FR1: QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS (서열번호 40);

V_H-FR2: WIRQAPGKGLEWIG (서열번호 37);

V_H-FR3: RFTLSADTAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR (서열번호 41);

V_H-FR4: WGQGTLLTVSS (서열번호 32).

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

V_H-FR1: QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS (서열번호 40);

V_H-FR2: WIRQAPGKGLEWIG (서열번호 37);

V_H-FR3: RFTLSADTAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR (서열번호 41);

V_H-FR4: WGQGTLLTVSS (서열번호 32).

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

V_H-FR1: EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT (서열번호 42);

V_H-FR2: WVRQMPGKGLEWIG (서열번호 34);

V_H-FR3: QVTLSADKSISTAYLQLSSLKASDTAMYYCVR (서열번호 35);

V_H-FR4: WGQGTLLTVSS (서열번호 32).

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

V_H-FR1: EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT (서열번호 42);

V_H-FR2: WVRQMPGKGLEWIG (서열번호 34);

V_H-FR3: QVTLSADKSISTAYLQLSSLKASDTAMYYCVR (서열번호 35);

V_H-FR4: WGQGTLLTVSS (서열번호 32).

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

V_H-FR1: QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS (서열번호 40);

V_H-FR2: WIRQAPGKGLEWVG (서열번호 43);

V_H-FR3: RFTLSADTAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR (서열번호 41);

V_H-FR4: WGQGTLLTVSS (서열번호 32).

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 HCVR을 포함한다:

V_H-FR1: QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS (서열번호 40);

V_H-FR2: WIRQAPGKGLEWVG (서열번호 43);

V_H-FR3: RFTLSADTAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR (서열번호 41);

V_H-FR4: WGQGTLLTVSS (서열번호 32).

- [0969] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0970] **V_L-FR1:** QIVLTQSPTIMSASPGEKVTITC (서열번호 44);
- [0971] **V_L-FR2:** WFQQKTGTSPRLWIY (서열번호 45);
- [0972] **V_L-FR3:** GVPARFSGSGSGTS-X₁₈-SLTISRMEAEDAATYYC (서열번호 46);
- [0973] **V_L-FR4:** GAGTKLELK (서열번호 47),
- [0974] 여기서,
- [0975] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [0976] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0977] **V_L-FR1:** QIVLTQSPTIMSASPGEKVTITC (서열번호 44);
- [0978] **V_L-FR2:** WFQQKTGTSPRLWIY (서열번호 45);
- [0979] **V_L-FR3:** GVPARFSGSGSGTS-X₁₈-SLTISRMEAEDAATYYC (서열번호 46);
- [0980] **V_L-FR4:** GAGTKLELK (서열번호 47)
- [0981] 여기서,
- [0982] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [0983] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0984] **V_L-FR1:** DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (서열번호 48);
- [0985] **V_L-FR2:** WFQQKPGKAPKLWIY (서열번호 49);
- [0986] **V_L-FR3:** GVPSRFSGSGSGTE-X₁₈-TLTISSLQPEDFATYYC (서열번호 50);
- [0987] **V_L-FR4:** GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [0988] 여기서,
- [0989] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [0990] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [0991] **V_L-FR1:** DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (서열번호 48);
- [0992] **V_L-FR2:** WFQQKPGKAPKLWIY (서열번호 49);
- [0993] **V_L-FR3:** GVPSRFSGSGSGTE-X₁₈-TLTISSLQPEDFATYYC (서열번호 50);
- [0994] **V_L-FR4:** GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [0995] 여기서,
- [0996] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [0997] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:

- [0998] **V_L-FR1:** EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC (서열번호 52);
- [0999] **V_L-FR2:** WFQQKPDQSPKLWIY (서열번호 53);
- [1000] **V_L-FR3:** GVPSRFSGSGSGTD-X₁₈-TLTINSLEAEDAATYYC (서열번호 54);
- [1001] **V_L-FR4:** GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1002] 여기서,
- [1003] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [1004] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1005] **V_L-FR1:** EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC (서열번호 52);
- [1006] **V_L-FR2:** WFQQKPDQSPKLWIY (서열번호 53);
- [1007] **V_L-FR3:** GVPSRFSGSGSGTD-X₁₈-TLTINSLEAEDAATYYC (서열번호 54);
- [1008] **V_L-FR4:** GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1009] 여기서,
- [1010] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [1011] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1012] **V_L-FR1:** EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC (서열번호 55);
- [1013] **V_L-FR2:** WFQQKPGQAPRLWIY (서열번호 56);
- [1014] **V_L-FR3:** GIPARFSGSGSGTD-X₁₈-TLTISSLEPEDFAVYYC (서열번호 57);
- [1015] **V_L-FR4:** GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1016] 여기서,
- [1017] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [1018] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1019] **V_L-FR1:** EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC (서열번호 55);
- [1020] **V_L-FR2:** WFQQKPGQAPRLWIY (서열번호 56);
- [1021] **V_L-FR3:** GIPARFSGSGSGTD-X₁₈-TLTISSLEPEDFAVYYC (서열번호 57);
- [1022] **V_L-FR4:** GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1023] 여기서,
- [1024] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [1025] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1026] **V_L-FR1:** DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (서열번호 48);
- [1027] **V_L-FR2:** WYQQKPGKAPKLWIY (서열번호 58);

- [1028] **V_L-FR3**: GVPSRFGSGSGTE-X₁₈-TLTISSLQPEDFATYYC (서열번호 50);
- [1029] **V_L-FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1030] 여기서,
- [1031] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [1032] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1033] **V_L-FR1**: DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (서열번호 48);
- [1034] **V_L-FR2**: WYQQKPGKAPKLWIY (서열번호 58);
- [1035] **V_L-FR3**: GVPSRFGSGSGTE-X₁₈-TLTISSLQPEDFATYYC (서열번호 50);
- [1036] **V_L-FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1037] 여기서,
- [1038] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Tyr (Y)이다.
- [1039] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1040] **V_L-FR1**: DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (서열번호 48);
- [1041] **V_L-FR2**: WYQQKPGKAPKLWIY (서열번호 58);
- [1042] **V_L-FR3**: GVPSRFGSGSGTE-X₁₈-TLTISSLQPEDFATYYC (서열번호 50);
- [1043] **V_L-FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1044] 여기서,
- [1045] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Phe (F)이다.
- [1046] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1047] **V_L-FR1**: DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (서열번호 48);
- [1048] **V_L-FR2**: WYQQKPGKAPKLWIY (서열번호 58);
- [1049] **V_L-FR3**: GVPSRFGSGSGTE-X₁₈-TLTISSLQPEDFATYYC (서열번호 50);
- [1050] **V_L-FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1051] 여기서,
- [1052] X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X₁₈은 Phe (F)이다.
- [1053] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1054] **V_L-FR1**: EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC (서열번호 52);
- [1055] **V_L-FR2**: WYQQKPDQSPKLWIY (서열번호 59);
- [1056] **V_L-FR3**: GVPSRFGSGSGTD-X₁₈-TLTINSLEAEDAATYYC (서열번호 54);
- [1057] **V_L-FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),

- [1058] 여기서,
- [1059] X_{18} 은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{18} 은 Phe (F)이다.
- [1060] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1061] V_L -**FR1**: EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC (서열번호 52);
- [1062] V_L -**FR2**: WYQQKPDQSPKLWIY (서열번호 59);
- [1063] V_L -**FR3**: GVPSRFSGSGSGTD- X_{18} -TLTINSLEAEDAATYYC (서열번호 54);
- [1064] V_L -**FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1065] 여기서,
- [1066] X_{18} 은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{18} 은 Phe (F)이다.
- [1067] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1068] V_L -**FR1**: EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC (서열번호 55);
- [1069] V_L -**FR2**: WYQQKPGQAPRLWIY (서열번호 60);
- [1070] V_L -**FR3**: GIPARFSGSGSGTD- X_{18} -TLTISSLEPEDFAVYYC (서열번호 57);
- [1071] V_L -**FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1072] 여기서,
- [1073] X_{18} 은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{18} 은 Phe (F)이다.
- [1074] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1075] V_L -**FR1**: EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC (서열번호 55);
- [1076] V_L -**FR2**: WYQQKPGQAPRLWIY (서열번호 60);
- [1077] V_L -**FR3**: GIPARFSGSGSGTD- X_{18} -TLTISSLEPEDFAVYYC (서열번호 57);
- [1078] V_L -**FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1079] 여기서,
- [1080] X_{18} 은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{18} 은 Phe (F)이다.
- [1081] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1082] V_L -**FR1**: DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (서열번호 48);
- [1083] V_L -**FR2**: WFQQKPGKAPKLWIY (서열번호 49);
- [1084] V_L -**FR3**: GVPSRFSGSGSGTE- X_{18} -TLTISSLQPEDFATYYC (서열번호 50);
- [1085] V_L -**FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1086] 여기서,
- [1087] X_{18} 은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{18} 은 Phe (F)이다.

- [1088] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 4개의 다음 FR을 포함하는 LCVR을 포함한다:
- [1089] V_L -**FR1**: DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (서열번호 48);
- [1090] V_L -**FR2**: WFQQKPGKAPKLWIY (서열번호 49);
- [1091] V_L -**FR3**: GVPSRFSGSGSGTE- X_{18} -TLTISSLQPEDFATYYC (서열번호 50);
- [1092] V_L -**FR4**: GGGTKVEIK (서열번호 51),
- [1093] 여기서,
- [1094] X_{18} 은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되고, 바람직하게는 X_{18} 은 Phe (F)이다.
- [1095] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 HCVR의 FR 및 (ii) 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 적어도 3개, 더욱 더 바람직하게는 4개의 LCVR의 FR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 3에 정의된 바와 같다.
- [1096] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 (i) 4개의 HCVR의 FR 및 (ii) 4개의 LCVR의 FR의 조합을 포함하고, 상기 조합은 표 3에 정의된 바와 같다.

표 3

HCVR 및 LCVR의 FR의 바람직한 조합. FR은 그들의 서열번호로 정의된다 (여기서, 적용 가능한 경우, X₁₈은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택된다).

FR의 조합 #	V _H - FR1	V _H - FR2	V _H - FR3	V _H - FR4	V _L - FR1	V _L - FR2	V _L - FR3	V _L - FR4
#1	25	26	27	28	44	45	46	47
#2	25	26	27	28	48	49	50	51
#3	25	26	27	28	52	53	54	51
#4	25	26	27	28	55	56	57	51
#5	25	26	27	28	48	58	50	51
#6	25	26	27	28	52	59	54	51
#7	25	26	27	28	55	60	57	51
#8	29	30	31	32	44	45	46	47
#9	29	30	31	32	48	49	50	51
#10	29	30	31	32	52	53	54	51
#11	29	30	31	32	55	56	57	51
#12	29	30	31	32	48	58	50	51
#13	29	30	31	32	52	59	54	51
#14	29	30	31	32	55	60	57	51
#15	33	34	35	32	44	45	46	47
#16	33	34	35	32	48	49	50	51
#17	33	34	35	32	52	53	54	51
#18	33	34	35	32	55	56	57	51
#19	33	34	35	32	48	58	50	51
#20	33	34	35	32	52	59	54	51
#21	33	34	35	32	55	60	57	51
#22	36	37	38	32	44	45	46	47
#23	36	37	38	32	48	49	50	51
#24	36	37	38	32	52	53	54	51
#25	36	37	38	32	55	56	57	51
#26	36	37	38	32	48	58	50	51
#27	36	37	38	32	52	59	54	51
#28	36	37	38	32	55	60	57	51
#29	39	34	35	32	44	45	46	47
#30	39	34	35	32	48	49	50	51
#31	39	34	35	32	52	53	54	51
#32	39	34	35	32	55	56	57	51
#33	39	34	35	32	48	58	50	51

[1097]

#34	39	34	35	32	52	59	54	51
#35	39	34	35	32	55	60	57	51
#36	40	37	41	32	44	45	46	47
#37	40	37	41	32	48	49	50	51
#38	40	37	41	32	52	53	54	51
#39	40	37	41	32	55	56	57	51
#40	40	37	41	32	48	58	50	51
#41	40	37	41	32	52	59	54	51
#42	40	37	41	32	55	60	57	51
#43	42	34	35	32	44	45	46	47
#44	42	34	35	32	48	49	50	51
#45	42	34	35	32	52	53	54	51
#46	42	34	35	32	55	56	57	51
#47	42	34	35	32	48	58	50	51
#48	42	34	35	32	52	59	54	51
#49	42	34	35	32	55	60	57	51
#50	40	43	41	32	44	45	46	47
#51	40	43	41	32	48	49	50	51
#52	40	43	41	32	52	53	54	51
#53	40	43	41	32	55	56	57	51
#54	40	43	41	32	48	58	50	51
#55	40	43	41	32	52	59	54	51
#56	40	43	41	32	55	60	57	51

[1098]

[1099]

하나의 구현예에서, 상기 정의된 바와 같은 임의의 V_H -FR1, V_H -FR2, V_H -FR3, V_H -FR4, V_L -FR1, V_L -FR2, V_L -FR3 및/또는 V_L -FR4는 상이한 아미노산으로 치환되는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 아미노산을 갖는 것으로 특성화될 수 있다.

[1100]

하나의 구현예에서, 상기 정의된 바와 같은 임의의 V_H -FR1, V_H -FR2, V_H -FR3, V_H -FR4, V_L -FR1, V_L -FR2, V_L -FR3 및/또는 V_L -FR4는 상기 정의된 바와 같은 특정 FR 또는 FR의 세트와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 아미노산 서열을 갖는 것으로 특성화될 수 있다.

[1101]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다:

[1102]

- 상기 기재된 바와 같은 V_H -FR1,

[1103]

- 상기 기재된 바와 같은 V_H -CDR1,

[1104]

- 상기 기재된 바와 같은 V_H -FR2,

[1105]

- 상기 기재된 바와 같은 V_H -CDR2,

[1106]

- 상기 기재된 바와 같은 V_H -FR3,

[1107]

- 상기 기재된 바와 같은 V_H -CDR3, 및

[1108]

- 상기 기재된 바와 같은 V_H -FR4.

[1109]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다:

[1110]

- 서열번호 25, 29, 33, 36, 39, 40 및 42로부터 선택되는 V_H -FR1;

[1111]

- 서열번호 1로부터 선택되는 V_H -CDR1;

[1112]

- 서열번호 26, 30, 34, 37 및 43으로부터 선택되는 V_H -FR2;

[1113]

- 서열번호 2로부터 선택되는 V_H -CDR2;

[1114]

- 서열번호 27, 31, 35, 38 및 41로부터 선택되는 V_H -FR3;

- [1115] - 서열번호 3으로부터 선택되는 V_H -CDR3; 및
- [1116] - 서열번호 28 및 32로부터 선택되는 V_H -FR4.
- [1117] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다:
- [1118] - 서열번호 25, 29, 33, 36, 39, 40 및 42로부터 선택되는 V_H -FR1;
- [1119] - 서열번호 1로부터 선택되는 V_H -CDR1;
- [1120] - 서열번호 26, 30, 34, 37 및 43으로부터 선택되는 V_H -FR2;
- [1121] - 서열번호 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 100, 116, 117, 118 및 119로부터 선택되는 V_H -CDR2;
- [1122] - 서열번호 27, 31, 35, 38 및 41로부터 선택되는 V_H -FR3;
- [1123] - 서열번호 3으로부터 선택되는 V_H -CDR3; 및
- [1124] - 서열번호 28 및 32로부터 선택되는 V_H -FR4.
- [1125] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 V_H -FR1, V_H -CDR1, V_H -FR2, V_H -CDR2, V_H -FR3, V_H -CDR3 및 V_H -FR4의 조합을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함하고, 상기 조합은 표 4에 정의된 바와 같다.

표 4

바람직한 HCVR. CDR 및 FR은 그들의 서열번호로 정의된다. 끝에서 두 번째 컬럼은 전체 HCVR의 서열번호를 지칭한다.

HCVR #	V_H - FR1	V_H - CDR1	V_H - FR2	V_H - CDR2	V_H - FR3	V_H - CDR3	V_H - FR4	HCVR 서열	명칭
#1	25	1	26	4	27	3	28	61	마우스 VH
#2	29	1	30	4	31	3	32	62	12VHA
#3	33	1	34	4	35	3	32	63	551VHA
#4	36	1	37	5	38	3	32	64	311VHA
#5	29	1	30	6	31	3	32	65	12VHB
#6	39	1	34	7	35	3	32	66	551VHB
#7	40	1	37	8	41	3	32	67	311VHB
#8	29	1	30	9	31	3	32	68	12VHC
#9	42	1	34	10	35	3	32	69	551VHC
#10	40	1	43	11	41	3	32	70	331VHC
#11	29	1	30	100	31	3	32	101	12VHD
#12	29	1	30	116	31	3	32	121	12VHE
#13	29	1	30	117	31	3	32	122	12VHF
#14	29	1	30	118	31	3	32	123	12VHG
#15	29	1	30	119	31	3	32	124	12VHH

- [1126]
- [1127] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 61의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 61의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 61

QVQLQQSGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTFTNYYIGWVKQRPGHGLEWIGDIFP
GGDYANSNEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCVRRNFDYWGQ
GTTLTVSS

[1128]

[1129]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 62의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 62의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 62

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGDIFP
GGDYANSNEKFKGRVTLTADTSISTAYMELSRRLSDDTVVYYCVRRNFDYWG
QGTLVTSS

[1130]

[1131]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 63의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 63의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 63

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKASGYTFTNYYIGWVRQMPGKGLEWIGDIFP
GGDYANSNEKFKGQVTLTADTKSISTAYLQLSSLKASDTAMYYCVRRNFDYWG
QGTLVTSS

[1132]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 64의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 64의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 64

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYTFTNYYIGWIRQAPGKGLEWIGDIFPG
GDYANSNEKVKGRFTLSADTAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRNFDYWG
QGTLVTSS

[1133]

[1134]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 65의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 65의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 65

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGDIFP
GGGYTNYAEKFQGRVTLTADTSISTAYMELSRRLSDDTVVYYCVRRNFDYWG
QGTLVTSS

[1135]

[1136]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 66의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 66의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 66

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTNYYIGWVRQMPGKGLEWIGDIFP
GGSYTNYSSESFQGQVTLSDAKSISTAYLQLSSLKASDTAMYVCVRRNFDYWGQ
GTLVTVSS

[1137]

[1138]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 67의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 67의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 67

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYIGWIRQAPGKGLEWIGDIFPG
GSYTNYADSVKGRFTLSADTAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRNFDYWG
QGTLVTVSS

[1139]

[1140]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 68의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 68의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 68

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGRIFP
GGGYTNYAQKFQGRVTLTADTSISTAYMELSLRLSDDTVVYYCVRRNFDYWG
QGTLVTVSS

[1141]

[1142]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 69의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 69의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 69

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYYIGWVRQMPGKGLEWIGIIFPG
GSYTNYSFQGGQVTLSDAKSISTAYLQLSSLKASDTAMYVCVRRNFDYWGQG
TLVTVSS

[1143]

[1144]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 70의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 70

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYYIGWIRQAPGKGLEWVGDIIFSG
GSYTNYADSVKGRFTLSADTAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRRNFDYWG
QGTLVTVSS

[1145]

[1146]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 101의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 101

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGDIFP
GGDYTNIAEKFQGRVTLTADTSISTAYMELSRRLSDDTVVYYCVRNFDYWG
QGTLVTVSS

[1147]

[1148]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 121의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 121의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 121

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGDIFP
GGGYANYAEKFQGRVTLTADTSISTAYMELSRRLSDDTVVYYCVRNFDYWG
QGTLVTVSS

[1149]

[1150]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 122의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 122의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 122

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGDIFP
GGGYTNIAEKFQGRVTLTADTSISTAYMELSRRLSDDTVVYYCVRNFDYWG
QGTLVTVSS

[1151]

[1152]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 123의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 123의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 123

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGDIFP
GGGYTNINEKFQGRVTLTADTSISTAYMELSRRLSDDTVVYYCVRNFDYWG
QGTLVTVSS

[1153]

[1154]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 또는 서열번호 124의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR을 포함한다.

서열번호 124

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGDIFP
GGGYTNSAEKFQGRVTLTADTSISTAYMELSRRLSDDTVVYYCVRNFDYWG
QGTLVTVSS

[1155]

[1156]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함하거나 이들로 구성되는 LCVR을 포함한다:

[1157]

- 상기 기재된 바와 같은 V_L -FR1,

- [1158] - 상기 기재된 바와 같은 V_L -CDR1,
- [1159] - 상기 기재된 바와 같은 V_L -FR2,
- [1160] - 상기 기재된 바와 같은 V_L -CDR2,
- [1161] - 상기 기재된 바와 같은 V_L -FR3,
- [1162] - 상기 기재된 바와 같은 V_L -CDR3, 및
- [1163] - 상기 기재된 바와 같은 V_L -FR4.
- [1164] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함하거나 이들로 구성되는 HCVR을 포함한다:
- [1165] - 서열번호 44, 48, 52 및 55로부터 선택된 V_L -FR1;
- [1166] - 서열번호 12로부터 선택된 V_L -CDR1;
- [1167] - 서열번호 45, 49, 53, 56, 58, 59 및 60으로부터 선택된 V_L -FR2;
- [1168] - 서열번호 13으로부터 선택된 V_L -CDR2;
- [1169] - 서열번호 46, 50, 54 및 57로부터 선택된 V_L -FR3;
- [1170] - 서열번호 14로부터 선택된 V_L -CDR3; 및
- [1171] - 서열번호 47 및 51로부터 선택된 V_L -FR4.
- [1172] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함하거나 이들로 구성되는 HCVR을 포함한다:
- [1173] - 서열번호 44, 48, 52 및 55로부터 선택된 V_L -FR1;
- [1174] - 서열번호 15 및 18로부터 선택된 V_L -CDR1;
- [1175] - 서열번호 45, 49, 53, 56, 58, 59 및 60으로부터 선택된 V_L -FR2;
- [1176] - 서열번호 16, 19, 20, 22, 111 및 120으로부터 선택된 V_L -CDR2;
- [1177] - 서열번호 46, 50, 54 및 57로부터 선택된 V_L -FR3;
- [1178] - 서열번호 17 및 21로부터 선택된 V_L -CDR3; 및
- [1179] - 서열번호 47 및 51로부터 선택된 V_L -FR4.
- [1180] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 V_L -FR1, V_L -CDR1, V_L -FR2, V_L -CDR2, V_L -FR3, V_L -CDR3 및 V_L -FR4의 조합을 포함하거나 이로 구성된 LCVR을 포함하고, 상기 조합은 표 5에 정의된 바와 같다.

표 5

바람직한 LCVR, CDR 및 FR은 그들의 서열번호로 정의된다. 끝에서 두 번째 컬럼은 전체 LCVR의 서열번호를 지칭한다 (부재이거나 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 X_{12} 및 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택되는 X_{18} 을 갖는 제1 서열번호; 및 바람직한 X_{12} 및 X_{18} 이 정의된 제2 서열번호를 가짐).

LCVR #	V _L -FR1	V _L -CDR1	V _L -FR2	V _L -CDR2	V _L -FR3	V _L -CDR3	V _L -FR4	LCVR 서열	명칭
#1	44	15	45	16	46	17	47	71 / 81	마우스 VL
#2	48	15	49	16	50	17	51	72 / 82	19VLA
#3	52	15	53	16	54	17	51	73 / 83	621VLA
#4	55	15	56	16	57	17	51	74 / 84	311VLA
#5	48	18	58	16	50	17	51	75 / 85	19VLB
#6	52	18	59	19	54	17	51	76 / 86	621VLB
#7	55	18	56	16	57	17	51	77 / 87	311VLB
#8	48	18	58	20	50	17	51	78 / 88	19VLC
#9	52	18	59	19	54	21	51	79 / 89	621VLC
#10	55	18	60	22	57	17	51	80 / 90	311VLC
#11	48	18	49	16	50	17	51	102 / 103	19VLD
#12	48	18	58	111	50	17	51	112 / 113	19VLB "N50A"
#13	44	15	45	120	46	17	47	125 / 126	마우스 "S52A"
#14	44	15	45	127	46	17	47	128 / 129	19VLB "N50X"

[1181]

[1182]

하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 상기 정의된 바와 같은 V_L-FR1, V_L-CDR1, V_L-FR2, V_L-CDR2, V_L-FR3, V_L-CDR3 및 V_L-FR4의 조합을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 가 부재가 아닌 경우 (즉, X_{12} 가 임의의 Asn (N), Ser (S) 또는 Gly (G)인 경우), X_{18} 은 Phe (F)이다. 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 상기 정의된 바와 같은 V_L-FR1, V_L-CDR1, V_L-FR2, V_L-CDR2, V_L-FR3, V_L-CDR3 및 V_L-FR4의 조합을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 가 부재인 경우, X_{18} 은 Tyr (Y) 및 Phe (F)로부터 선택된다.

[1183]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X_{12} 가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 71의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 71의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 71

QIVLTQSPTIMSASPGKVTITCSASSSVS- X_{12} -YMHWFQKKTGTSPRLWIYNTS
NLPSGVPARFSGSGSGTSFSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGAGTKLELK

[1184]

[1185]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X_{12} 가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 72의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 72의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 72

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTITCSASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPGKAPKLWIYNTS
NLPSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1186]

[1187] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 73의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 73의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 73

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPDQSPKLWIYNTS
NLPSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1188]

[1189] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 74의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 74의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 74

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPGQAPRLWIYNTS
NLPSGIPARFSGSGSGTDFTLTISLPEPDEFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1190]

[1191] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 75의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 75의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 75

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTITCRASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPGKAPKLWIYNTS
NLPSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1192]

[1193] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 76의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 76의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 76

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPDQSPKLWIYNTS
NLPSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1194]

[1195] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 77의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 77의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%,

80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR를 포함한다.

서열번호 77

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPGQAPRLWIYNTS
NLPSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1196]

[1197]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 78의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR를 포함한다.

서열번호 78

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTTCRASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPGKAPKLWIYATS
NLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1198]

[1199]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 79의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 79의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR를 포함한다.

서열번호 79

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTTCRASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPDQSPKLWIYNTS
NPSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1200]

[1201]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 80의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 80의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR를 포함한다.

서열번호 80

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPGQAPRLWIYNTS
NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1202]

[1203]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X₁₂가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 102의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 102의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR를 포함한다.

서열번호 102

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTTCRASSSVS-X₁₂-YMHWFQQKPGKAPKLWIYNTS
NLPSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1204]

[1205] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X_{12} 가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 112의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 112의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 112

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASSSVS- X_{12} -YMHYQQKPGKAPKLWIYATS
NLPSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIK

[1206]

[1207] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X_{12} 가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되는 서열번호 125의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 125의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 125

QIVLTQSPTIMASAPGEKVTITCSASSSVS- X_{12} -YMHWFQKKTGTSPRLWIYN
NLPSGVPARFSGSGSGTSFSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGAGTKLELK

[1208]

[1209] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X_{12} 가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, X_{13} 이 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)인 서열번호 128의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 128의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 128

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASSSVS- X_{12} -YMHYQQKPGKAPKLWIY- X_{13} -
TSNLPSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIK

[1210]

[1211] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 71-80, 102, 112, 125 또는 128의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 부재이다.

[1212] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 81의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 81의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 81

QIVLTQSPTIMASAPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQKKTGTSPRLWIYNTSNLPS
GVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGAGTKLELK

[1213]

[1214] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 82의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 82의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 82

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTITCSASSSVSYMHWFQQKPGKAPKLWIYNTSNLPS
GVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1215]

[1216]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 83의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 83의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 83

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPDQSPKLWIYNTSNLPS
GVPSRFSGSGSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1217]

[1218]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 84의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 84의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 84

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLWIYNTSNLPS
GIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1219]

[1220]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 85의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 85의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 85

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTITCRASSSVSYMHWFQQKPGKAPKLWIYNTSNLP
SGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1221]

[1222]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 86의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 86의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 86

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASSSVSYMHWFQQKPDQSPKLWIYNTSNLPS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1223]

[1224]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 87의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 87의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 87

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLWIYNTSNLPS
GIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1225]

[1226]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 88의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는

서열번호 88의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 88

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKLWIYATSNLQ
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1227]

[1228]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 89의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 89의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 89

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASSSVSYMHWYQQKPDQSPKLWIYNTSNSPS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1229]

[1230]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 90의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 90의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 90

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLWIYNTSNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1231]

[1232]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 103의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 103의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 103

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTITCRASSSVSSYMHWFQQKPGKAPKLWIYNTSNL
PSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1233]

[1234]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 113의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 113의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 113

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKLWIYATSNLP
SGVPSRFSGSGSGTEYTLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1235]

[1236]

바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 126의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 126의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 126

QIVLTQSPTIMASAPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKTGTSPRLWIYNTANLPS
GVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPLTFGAGTKLELK

[1237]

[1238] 바람직한 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 X_{13} 이 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)인 서열 번호 129의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR; 또는 서열번호 129의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR을 포함한다.

서열번호 129

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASSSVSYMHWYQKPGKAPKLWIY- X_{13} -TS
NLPSGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

[1239]
[1240] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:

[1241] - 상기 정의된 바와 같은 HCVR; 및

[1242] - 상기 정의된 바와 같은 LCVR.

[1243] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:

[1244] - 서열번호 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 101, 121, 122, 123 및 124로부터 선택된 HCVR; 또는 서열번호 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 101, 121, 122, 123 또는 124의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 및

[1245] - X_{12} 가 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택되고, X_{13} 이 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)인 서열번호 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 102, 112, 125 및 128로부터 선택된 LCVR; 또는 서열번호 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 102, 112, 125 또는 128의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR.

[1246] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 다음을 포함한다:

[1247] - 서열번호 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 101, 121, 122, 123 및 124로부터 선택된 HCVR; 또는 서열번호 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 101, 121, 122, 123 또는 124의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 HCVR; 및

[1248] - X_{13} 이 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)인 서열번호 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 103, 113, 126 및 129로부터 선택된 LCVR; 또는 서열번호 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 103, 113, 126 또는 129의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하거나 이로 구성되는 LCVR.

[1249] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 61의 HCVR 및 서열번호 71의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.

[1250] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 61의 HCVR 및 서열번호 72의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.

[1251] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 61의 HCVR 및 서열번호 73의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.

[1252] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 61의 HCVR 및 서열번호 74의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.

[1253] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 61의 HCVR 및 서열번호 75의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [1368] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 73의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1369] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 74의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1370] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 75의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1371] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 76의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1372] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 77의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1373] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 78의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1374] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 79의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1375] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 80의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1376] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 102의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1377] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 112의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1378] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 70의 HCVR 및 서열번호 125의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1379] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 HCVR 및 서열번호 71의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1380] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 HCVR 및 서열번호 72의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1381] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 HCVR 및 서열번호 73의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1382] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 HCVR 및 서열번호 74의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1383] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 HCVR 및 서열번호 75의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1384] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 HCVR 및 서열번호 76의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1385] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 HCVR 및 서열번호 77의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.
- [1386] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 101의 HCVR 및 서열번호 78의 LCVR을 포함하고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 및 Gly (G)로부터 선택된다.

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

- [1624] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 123의 HCVR 및 서열번호 113의 LCVR을 포함한다.
- [1625] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 123의 HCVR 및 서열번호 126의 LCVR을 포함한다.
- [1626] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 81의 LCVR을 포함한다.
- [1627] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 82의 LCVR을 포함한다.
- [1628] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 83의 LCVR을 포함한다.
- [1629] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 84의 LCVR을 포함한다.
- [1630] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 85의 LCVR을 포함한다.
- [1631] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 86의 LCVR을 포함한다.
- [1632] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 87의 LCVR을 포함한다.
- [1633] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 88의 LCVR을 포함한다.
- [1634] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 89의 LCVR을 포함한다.
- [1635] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 90의 LCVR을 포함한다.
- [1636] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 103의 LCVR을 포함한다.
- [1637] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 113의 LCVR을 포함한다.
- [1638] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 서열번호 124의 HCVR 및 서열번호 126의 LCVR을 포함한다.
- [1639] 하나의 구현예에서, 상기 정의된 바와 같은 임의의 HCVR 및/또는 LCVR은 상이한 아미노산에 의해 치환되는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35개 이상의 아미노산을 갖는 것으로 특성화될 수 있다.
- [1640] 하나의 구현예에서, 상기 정의된 바와 같은 임의의 HCVR 및/또는 LCVR의 비-CDR 영역의 서열은 상이한 아미노산에 의해 치환되는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35개 이상의 아미노산을 갖는 것으로 특성화될 수 있다.
- [1641] 하나의 구현예에서, 상기 정의된 바와 같은 임의의 HCVR 및/또는 LCVR은 상기 정의된 바와 같은 특정 HCVR 및/또는 LCVR과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 아미노산 서열을 갖는 것으로 특성화될 수 있다.
- [1642] 하나의 구현예에서, 상기 정의된 바와 같은 임의의 HCVR 및/또는 LCVR의 비-CDR 영역의 서열은 상기 정의된 바와 같은 특정 HCVR 및/또는 LCVR의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 아미노산 서열을 갖는 것으로 특성화될 수 있다.
- [1643] 본 명세서는 또한 상기 "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에 개시된 hCD45RC에 결합하는 항체 또는 이의 결합 단편을 인코딩하는 단리된 핵산을 기재한다.
- [1644] 하나의 구현예에서, 단리된 핵산은 정제된다.
- [1645] 하나의 구현예에서, 단리된 핵산은 다음으로 정제된다:
- [1646] (1) 흡광도 방법 또는 형광 방법에 의해(예를 들어, 260 및 280nm에서 흡광도의 비율($A_{260/280}$)을 측정하여) 결정된 바와 같이 핵산의 80중량%, 85중량%, 90중량%, 91중량%, 92중량%, 93중량%, 94중량%, 95중량% 이상, 가장 바람직하게는 96중량%, 97중량%, 98중량% 또는 99중량% 이상; 또는
- [1647] (2) 아가로스 겔 전기영동에 의해, 삽입제, 예를 들어, 브롬화에티듐, SYBR 그린, 겔그린 또는 등을 사용하여 제시된 바와 같은 균질성.
- [1648] 하나의 구현예에서, 항원 결합 단편을 인코딩하는 핵산은 "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에 개시된 항체 또는 이의 결합 단편의 HCVR을 인코딩하는 서열을 포함하거나 이로 구성된다.
- [1649] 하나의 구현예에서, 항원 결합 단편을 인코딩하는 핵산은 서열번호 61을 갖는 뮤린 또는 키메라 항체 또는 이의 결합 단편의 HCVR을 인코딩하는, 서열번호 95의 서열 또는 서열번호 95와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%,

95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 임의의 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 95

CAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGCGCTGAGCTGGTTAGGCCTGGGACTTCA
GTGAAGATGTCCTGCAAGGCCGCTGGATACACCTTCACTAACTACTACATA
GGTTGGGTAAAGCAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATCGGAGATATT
TTCCCTGGAGGTGACTATGCCAACAGCAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGCC
ACACTGACTGCAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGC
CTGACATCTGAGGACTCTGCCATCTATTACTGTGTGAGAAGGAACCTTTGACT
ACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTGTCTCA

[1650]

[1651]

하나의 구현예에서, 항원 결합 단편을 인코딩하는 핵산은 "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에 개시된 항체 또는 이의 결합 단편의 LCVR을 인코딩하는 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[1652]

하나의 구현예에서, 항원 결합 단편을 인코딩하는 핵산은 서열번호 81을 갖는 뮤린 또는 키메라 항체 또는 이의 결합 단편의 LCVR을 인코딩하는, 서열번호 96의 서열 또는 서열번호 96과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 임의의 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 96

CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAACAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGA
AGGTGACCATAACCTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGT
TCCAGCAGAAGACAGGCACTTCTCCCAGACTCTGGATTTATAACACATCCA
ACCTGCCTTCTGGAGTCCCCGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCTC
TACTCTCTCACAATCAGCCGAATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTAC
TGCCAGCAAAGGAGTAGTTACCCACTCACGTTCTGGTGCTGGGACCAAGCTG
GAGCTGAAA

[1653]

[1654]

하나의 구현예에서, 항원 결합 단편을 인코딩하는 핵산은 다음을 포함하거나 이로 구성된다:

[1655]

- "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에 개시된 항체 또는 이의 결합 단편의 HCVR을 인코딩하는 서열, 및

[1656]

- "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에 개시된 항체 또는 이의 결합 단편의 LCVR을 인코딩하는 서열.

[1657]

하나의 구현예에서, 항원 결합 단편을 인코딩하는 핵산은 다음을 포함하거나 이로 구성된다:

[1658]

- 서열번호 95의 서열 또는 서열번호 95와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 임의의 서열 및

[1659]

- 서열번호 96의 서열 또는 서열번호 96과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 동일성을 공유하는 임의의 서열.

[1660]

당업자가 특히 "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에 개시된 인간화 항체 또는 이의 결합 단편에 대해 본원에 개시된 다른 HCVR 및 LCVR 모두를 인코딩하는 핵산 서열을 설계할 수 있음이 쉽게 이해될 것이다.

[1661]

당업자는, 예를 들어, 코돈 최적화에 의해서와 같은 재조합 생산 속도를 개선하기 위해 핵산 서열을 변형시키는 것을 목적으로 하는 분자 생물학 방법에 친숙하다는 것이 추가로 이해된다. 궁극적으로, 본 출원은 본원에 개시된 바와 같은 임의의 HCVR 및/또는 LCVR을 인코딩하는 임의의 핵산을 포함한다.

[1662]

본 발명은 인간 CD45RC에 특이적인 키메라 수용체를 제공하고, 여기서 상기 CAR은 다음을 포함한다:

[1663]

(a) 적어도 하나의 세포의 결합 도메인으로서, 상기 결합 도메인이 상기 인간 CD45RC에 결합하는, 적어도 하나

의 세포와 결합 도메인,

- [1664] (b) 임의로, 적어도 하나의 세포의 힌지 도메인,
- [1665] (c) 적어도 하나의 막관통 도메인, 및
- [1666] (d) 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인으로, 상기 세포내 도메인이 적어도 하나의 T 세포 1차 신호전달 도메인 및 임의로 적어도 하나의 T 세포 공동자극 신호전달 도메인.
- [1667] 본원에 사용된 용어 "**키메라 수용체**"(CR) 또는 "**키메라 항원 수용체**"(CAR)는 하나의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 세트, 전형적으로 가장 간단하나의 구현예에서 두 개를 지칭하며, 이는 면역 세포 내에 있을 때, 표적 리간드에 대한 특이성 및 세포내 신호 생성을 갖는 세포를 제공한다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드의 세트는 서로 인접한다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 폴리펩티드의 세트를 포함하는 키메라 융합 단백질이다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드의 세트는 이량체화 분자의 존재시, 폴리펩티드를 서로 커플링시킬 수 있고, 예를 들어, 리간드 결합 도메인을 세포내 신호전달 도메인에 커플링시킬 수 있는 이량체화 스위치를 포함한다. 하나의 구현예에서, 키메라 수용체는 키메라 수용체 융합 단백질의 아미노-말단(N-ter)에 임의의 리더 서열을 포함한다. 하나의 구현예에서, 키메라 수용체는 세포의 리간드 결합 도메인의 N-말단에 리더 서열을 추가로 포함하며, 여기서 리더 서열은 키메라 수용체의 세포막으로의 세포 처리 및 국소화 동안 리간드 결합 도메인으로 부터 임의로 절단된다.
- [1668] 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 하나 이상의 폴리펩티드를 포함한다.
- [1669] 일부 구현예에서, 세포와 결합 도메인은 항원-결합 도메인이고, 따라서 키메라 수용체는 또한 키메라 항원 수용체 (또는 CAR)로서 지칭될 수 있다.
- [1670] 본 발명의 키메라 수용체 또는 키메라 항원 수용체는 적어도 하나의 세포와 결합 도메인을 포함하며, 여기서 상기 결합 도메인은 인간 CD45RC에 결합한다.
- [1671] 일부 구현예에서, 본 발명의 키메라 수용체의 세포의 도메인은 적어도 하나의 리간드-결합 도메인 또는 항원-결합 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 도메인은 항체 또는 항원-결합 단편이다.
- [1672] 일부 구현예에서, 본 발명의 키메라 수용체는 인간 CD45RC에 지시된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 예를 들어, "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에 상기 본원에 기재된 임의의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.
- [1673] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포와 결합 도메인은 "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에서 상기 본원에 기재된 인간 CD45RC에 지시된 항체를 포함한다.
- [1674] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포와 결합 도메인은 "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에서 상기 본원에 기재된 인간 CD45RC에 지시된 항원 결합 단편을 포함한다.
- [1675] 하나의 구현예에서, 세포와 결합 도메인은 다음을 포함하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [1676] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [1677] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H-CDR1;
- [1678] (ii) 서열번호 4, 5, 6, 8, 100, 116, 117, 118 및 119의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H-CDR2; 및
- [1679] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H-CDR3; 및
- [1680] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [1681] (i) 서열번호 15(SASSSVS-X₁₂-YMH) 및 18(RASSSVS-X₁₂-YMH)의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L-CDR1(여기서, X₁₂는 부재이거나, Asn(N), Ser(S) 및 Gly(G)로부터 선택된다);
- [1682] (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L-CDR2; 및
- [1683] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L-CDR3.

- [1684] 하나의 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 다음을 포함하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [1685] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [1686] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [1687] (ii) 서열번호 4 및 5의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및
- [1688] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [1689] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [1690] (i) 서열번호 15의 서열의 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);
- [1691] (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [1692] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [1693] 하나의 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 다음을 포함하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [1694] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [1695] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [1696] (ii) 서열번호 4의 V_H -CDR2; 및
- [1697] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [1698] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [1699] (i) 서열번호 15의 서열의 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);
- [1700] (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [1701] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [1702] 하나의 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 다음을 포함하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [1703] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [1704] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [1705] (ii) 서열번호 4, 6 및 100의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및
- [1706] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [1707] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [1708] (i) 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR1(여기서, X_{12} 는 부재이다);
- [1709] (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [1710] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3.
- [1711] 하나의 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 다음을 포함하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함한다:
- [1712] 1) 서열번호 61의 서열의 HCVR 및 서열번호 81의 서열의 LCVR;
- [1713] 2) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- [1714] 3) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;
- [1715] 4) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;

- [1716] 5) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- [1717] 6) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;
- [1718] 7) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;
- [1719] 8) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- [1720] 9) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 83의 서열의 LCVR;
- [1721] 10) 서열번호 64의 서열의 HCVR 및 서열번호 84의 서열의 LCVR;
- [1722] 11) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1723] 12) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR;
- [1724] 13) 서열번호 65의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1725] 14) 서열번호 65의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR;
- [1726] 15) 서열번호 62의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1727] 16) 서열번호 101의 서열의 HCVR 및 서열번호 82의 서열의 LCVR;
- [1728] 17) 서열번호 121의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1729] 18) 서열번호 122의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1730] 19) 서열번호 123의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1731] 20) 서열번호 124의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1732] 21) 서열번호 63의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1733] 22) 서열번호 67의 서열의 HCVR 및 서열번호 85의 서열의 LCVR;
- [1734] 23) 서열번호 67의 서열의 HCVR 및 서열번호 103의 서열의 LCVR; 또는
- [1735] 24) 1) 내지 23)에 따르는 HCVR 및 LCVR의 비-CDR 영역의 서열과 적어도 70%의 동일성을 공유하는 비-CDR 영역의 서열을 포함하는 HCVR 및 LCVR.
- [1736] 하나의 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 다음을 포함하는 적어도 하나의 항원 결합 단편을 포함하고:
- [1737] (a) 다음 3개의 CDR을 포함하는 HCVR:
- [1738] (i) 서열번호 1의 서열의 V_H -CDR1;
- [1739] (ii) 서열번호 4, 5, 6, 8, 100, 116, 117, 118 및 119의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_H -CDR2; 및
- [1740] (iii) 서열번호 3의 서열의 V_H -CDR3; 및
- [1741] (b) 다음 3개의 CDR을 포함하는 LCVR:
- [1742] (i) 서열번호 15 및 18의 서열을 포함하는 그룹으로부터 선택된 서열을 갖는 V_L -CDR1(여기서, 서열번호 15 및 18에서 X_{12} 는 Asn(N), Ser(S) 및 Gly(G)로부터 선택된다);
- [1743] (ii) 서열번호 16의 서열의 V_L -CDR2; 및
- [1744] (iii) 서열번호 17의 서열의 V_L -CDR3;
- [1745] 바람직하게는, 상기 LCVR의 카바트 위치 L71에서 아미노산 잔기는 Phe(F)이다.
- [1746] 본 발명의 CAR에 포함되는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 리간드 결합 도메인이, 예를 들어, 단일 도메인 항체 단편(sdAb), 단일 쇄 항체(scFv), 인간화 항체 또는 이중특이적 항체를 포함하는 인접한 폴리펩티드 쇄의 일 부분으로서 발현되는 다양한 형태로 존재할 수 있다(참조: Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A

Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York; Houston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); Bird et al., Science 242:423-426 (1988)). 일부 측면에서, 본 발명의 키메라 수용체의 항원 결합 도메인은 항체 단편 또는 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 측면에서, 키메라 수용체는 scFv를 포함하는 항원 결합 단편을 포함한다.

[1747] 일부 구현예에서, 상기 항체 또는 항원 결합 단편은 인간화 항체, 단일쇄 항체, 이량체 단일쇄 항체, Fv, scFv, Fab, F(ab)₂, 탈푸코실화 항체, 이중특이적 항체, 디아바디, 트리아바디 및 테트라바디로 이루어진 그룹으로부터 선택된 항체 분자이다.

[1748] "단일쇄 항체"는, 제한 없이, (1) 단일쇄 Fv 분자(scFv); (2) 하나의 경쇄 가변 도메인만을 함유하는 단일쇄 단백질, 또는 관련된 중쇄 잔기 없이 경쇄 가변 도메인의 3개의 CDR을 함유하는 이의 단편; 및 (3) 하나의 중쇄 가변 영역만을 함유하는 단일쇄 단백질, 또는 관련된 경쇄 모이어티 없이 중쇄 가변 영역의 3개의 CDR을 함유하는 이의 단편을 포함하는 인접 아미노산 잔기의 하나의 차단되지 않은 서열을 포함하거나 이로 구성되는 1차 구조를 갖는 단백질인 임의의 항체 또는 이의 단편을 지칭한다.

[1749] 또한 "sFv" 또는 "scFv"로서 약칭된 "단일쇄 Fv"는 단일 아미노산 쇠에 연결된 V_H 및 V_L 항체 도메인을 포함하는 항체 단편을 지칭한다. 바람직하게는, scFv 아미노산 서열은 추가로 scFv가 항원 결합을 위한 목적하는 구조를 형성할 수 있게 하는 V_H 및 V_L 도메인 사이에 펩티드 링커를 포함한다(참조: Plückthun, 1994. Antibodies from *Escherichia coli*. In Rosenberg & Moore (Eds.), *The pharmacology of monoclonal antibodies*. Handbook of Experimental Pharmacology, 113:269-315. Springer: Berlin, Heidelberg).

[1750] "Fv"는 완전 항원-인식 및 -결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편을 지칭한다. 이 단편은 단단한 비공유 결합으로 하나의 HCVR 및 하나의 LCVR의 이량체로 구성된다. 이러한 2개의 도메인의 중첩으로부터 항원 결합에 기여하고 항체에 항원 결합 특이성을 부여하는 6개의 추가변 루프(각각 중쇄 및 경쇄로부터 3개의 루프)를 발산한다. 그러나, 심지어 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 3개의 CDR만을 포함하는 Fv의 절반)은 전체 결합 부위보다 더 낮은 친화성에서이지만 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.

[1751] "디아바디"는 가변 도메인의 쇠내 페어링이 아니라 쇠간 페어링이 달성되어 2가 단편, 즉 2개의 항원 결합 부위를 갖는 단편을 초래하도록 HCVR과 LCVR 사이에 짧은 링커(약 5 내지 10개 잔기)를 갖는 scFv 단편을 작제함으로써 제조되는 작은 항체 단편을 지칭한다. 이중특이적 디아바디는 두 항체의 HCVR 및 LCVR이 상이한 폴리펩티드 쇠에 존재하는 2개의 "크로스오버" scFv 단편의 이중이량체이다. 디아바디는 문헌[참조: 특허 EP0404097, 특허 출원 W01993011161; 및 Holliger et al., 1993. Proc Natl Acad Sci USA. 90(14):6444-8]에 보다 완전히 기재되어 있다.

[1752] 일부 구현예에서, 상기 항체는 유니바디, 단일 도메인 항체, 및 나노바디로 이루어진 그룹으로부터 선택된 항체 단편이다.

[1753] "유니바디"는 당업계에 익히 공지되어 있고, IgG4 항체의 힌지 영역이 결여된 항체 단편을 지칭한다. 힌지 영역의 결실은 본질적으로 전통적인 IgG4 항체의 크기의 절반인 분자를 초래하고, IgG4 항체의 2가 결합 영역보다 1가 결합 영역을 갖는다.

[1754] "도메인 항체"는 당업계에 익히 공지되어 있고, 항체의 중쇄 또는 경쇄의 가변 영역에 상응하는 항체의 최소 기능적 결합 단위를 지칭한다.

[1755] "단일 도메인 항체"는 당업계에 익히 공지되어 있고, 천연 중쇄 항체의 독특한 구조적 및 기능적 특성을 함유하는 항체 유도 단백질을 지칭한다(참조: Muyldermans, 2013. Annu Rev Biochem. 82:775-97). 이러한 중쇄 항체는 단일 가변 도메인(V_HH)-이러한 일례는 나노바디®이다 - 또는 단일 가변 도메인(V_HH) 및 2개의 불변 도메인(C_H2 및 C_H3) - 예를 들어, 카멜리드 항체-, 또는 단일 가변 도메인(V_HH) 및 5개의 불변 도메인(C_H1, C_H2, C_H3, C_H4 및 C_H5) - 예를 들어, 상어 항체를 함유할 수 있다.

[1756] 일부 구현예에서, 상기 항체는 아피바디, 아필린, 아피틴, 아드넥틴, 아트림머, 에바신, DARPIn, 안티칼린, 아비머, 피노머, 베르사바디 및 듀오칼린으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 항체 모방체이다.

[1757] "아피바디"는 당업계에 익히 공지되어 있고, 스태필로코컬 단백질 A의 IgG 결합 도메인 중 하나로부터 유도된

58개 아미노산 잔기 단백질 도메인에 기초하는 친화도 단백질을 지칭한다(참조: Frejd & Kim, 2017. *Exp Mol Med.* **49**(3):e306; 특허 US5,831,012).

- [1758] "DARPs"(설계된 안키린 반복 단백질)은 당업계에 익히 공지되어 있고, 비-항체 단백질의 결합 능력을 이용하여 위해 개발된 항체 모방 DRP(설계된 반복 단백질) 기술을 지칭한다(참조: Binz *et al.*, 2003. *J Mol Biol.* **332**(2):489-503; Pluchthun, 2015. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* **55**:489-511).
- [1759] "안티칼린"은 당업계에 익히 공지되어 있고, 다른 항체 모방 기술을 지칭하고, 여기서 결합 특이성은 리포칼린 으로부터 유도된다(참조: Skerra, 2008. *FEBS J.* **275**(11):2677-83). 안티칼린은 또한 "듀오칼린"으로 칭명 되는 이중 표적화 단백질로서 포맷화될 수 있다(참조: Schlehuber & Skerra, 2001. *Biol Chem.* **382**(9):1335-42).
- [1760] "아비머"는 당업계에 익히 공지되어 있고, 다른 항체 모방 기술을 지칭한다(참조: Silverman *et al.*, 2005. *Nat Biotechnol.* **23**(12):1556-61).
- [1761] "베르사바디"는 당업계에 익히 공지되어 있고, 다른 항체 모방 기술을 지칭한다(참조: 특허 출원 US20070191272). 그들은 >15% 시스테인을 갖는 3-5 kDa의 작은 단백질이며, 이는 높은 디설파이드 밀도 스캐폴 드를 형성하여 전형적인 단백질이 갖는 소수성 코어를 대체시킨다. 소수성 코어를 포함하는 다수의 소수성 아 미노산을 소수의 디설파이드로 대체하면 대부분 MHC 제시에 기여하는 잔기가 소수성이기 때문에, 더 작고, 보다 친수성이며(덜 응집 및 비특이적 결합), 프로테아제 및 열에 더 내성이며, T 세포 에피토프의 더 낮은 밀도를 갖는 단백질을 초래한다. 이러한 특성 4개 모두는 면역원성에 영향을 미치는 것으로 익히 공지되어 있고, 그들은 함께 면역원성의 큰 감소를 일으킬 것으로 예상된다.
- [1762] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 또한 다중특이적 항체 또는 이의 결합 단편을 포함한다, 즉 하나 이상, 예를 들어, 적어도 두 개의 상이한 항원에 대해 면역특이적이며, 그 중 하나는 본 발명에 따르는 hCD45RC이다.
- [1763] 하나의 구현예에서, 항체 또는 이의 결합 단편은 또한 항체 또는 이의 결합 단편의 중합체를 포함한다, 즉 하나 이상, 예를 들어, 적어도 두 개의 항체 또는 이의 결합 단편은 동일하든 상이하든, 직접 또는 간접적으로 함께 공유적으로 연결된다.
- [1764] 항체의 단편 및 유도체 (이는 달리 언급되지 않거나 문맥에 의해 명백하게 모순되지 않는 한, 본 출원에서 사용 된 용어 "항체"에 의해 포함됨)는 당업계에 공지된 기술에 의해 생성될 수 있다. "단편"은 무손상 항체의 일부, 일반적으로 항원 결합 부위 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, 및 Fv 단편; 디아바디; 제한 없이, (1) 단일쇄 Fv 분자, (2) 하나의 경쇄 가변 도메인만을 함유하는 단일쇄 폴리펩티드, 또는 관련 중쇄 모이어티 없이 경쇄 가변 도메인의 3개의 CDR을 함유하는 이의 단편 및 (3) 하나의 중쇄 가변 영역만을 함유하는 단일쇄 폴리펩티드, 또는 관련 경쇄 모이어티 없이 중쇄 가변 영역의 3개의 CDR을 함유하는 이의 단편을 포함하는 인접 아미노산 잔기의 1개의 중단되지 않은 서열로 이루어진 1차 구조를 갖는 폴리펩티드인 임의의 항체 단편(본원에서 "단일쇄 항체 단편" 또는 "단일쇄 폴리펩티드"로서 지칭됨); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다. 본 항체의 단편은 표준 방법을 사용하여 수득될 수 있다. 제공된 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌[참조: Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD ("Kabat" numbering scheme), Al-Lazikani *et al.*, JMB 273:927-948 (1997) ("Chothia" numbering scheme)]에 기재된 것들을 포함하는 다수의 익히 공지된 반응식 중 어느 하나 또는 이들의 조합을 사용하여 결정될 수 있다.
- [1765] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 항원 결합 도메인은 항체 단편, 예를 들어, scFv를 포함하거나 이로 구성된 다. 특정 구현예에서, 항원-결합 도메인은 scFv이다.
- [1766] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR은 제1 항원, hCD45RC에 대한 세포외 결합 도메인, 및 다른 항원에 대한 적어도 하나의 다른 세포외 결합 도메인을 포함한다. 이러한 CAR은 적어도 2개의 상이한 항원에 결합할 수 있다.
- [1767] 하나의 구현예에서, 상기 적어도 하나의 다른 세포외 결합 도메인은 특정 항원 또는 이의 항원 결합 단편에 지시된 항체이다.
- [1768] 하나의 구현예에서, 상기 적어도 하나의 다른 세포외 결합 도메인은 항체 단편, 예를 들어, scFv를 포함하거나 이로 구성된다.

- [1769] 하나의 구현예에서, scFv는 V_H 및 V_L 쇄를 연결하는 링커를 포함한다.
- [1770] 하나의 구현예에서, 링커는 바람직하게는 2 내지 10개 아미노산 범위의 길이를 갖는 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드이다.
- [1771] 예를 들어, 글리신-세린 이중선은 특히 적합한 링커(GS 링커)를 제공한다. Gly/Ser 링커의 예는 GS 링커, G_2S 링커, G_3S 링커, G_4S 링커를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [1772] G_2S 링커의 비제한적인 예는 GGS이다.
- [1773] G_3S 링커는 $(GGGS)_n$ 또는 (서열번호 130)_n으로도 지칭되는 아미노산 서열 $(Gly-Gly-Gly-Ser)_n$ 을 포함하며, 여기서 n은 1 이상의 양의 정수이다(예: n=1, n=2, n=3, n=4, n=5, n=6, n=7, n=8, n=9 또는 n=10). G_3S 링커의 예는 GGGSGGGSGGGSGGS(서열번호 131)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [1774] G_4S 링커의 예는 GGGGS(서열번호 132)에 상응하는 (Gly_4Ser) ; GGGSGGGGS(서열번호 133)에 상응하는 $(Gly_4Ser)_2$; GGGSGGGSGGGGS(서열번호 134)에 상응하는 $(Gly_4Ser)_3$; 및 GGGSGGGSGGGSGGGGS(서열번호 135)에 상응하는 $(Gly_4Ser)_4$ 를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [1775] 하나의 구현예에서, 링커는 서열번호 136의 서열에 의해 인코딩될 수 있는 $(G_4S)_3$ 링커(서열번호 134)이다.

서열번호 136

GGAGGTGGAGGCTCTGGCGGTGGAGGAAGTGGTGGGGGAGGCTCT

- [1776]
- [1777] 하나의 구현예에서, 링커는 서열번호 137의 서열에 의해 인코딩될 수 있는 $(G_4S)_3$ 링커(서열번호 134)이다.

서열번호 137

GGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCGGCGGATCT

- [1778]
- [1779] 하나의 구현예에서, scFv는 서열번호 173의 아미노산 서열을 인코딩하는 서열번호 138의 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 138

AAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGCGCTGAGCTGGTTAGGCCTGGGACTTCA
GTGAAGATGTCCTGCAAGGCCGCTGGATACACCTTCACTAACTACTACATA
GGTTGGGTAAAGCAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATCGGAGATATT
TTCCCTGGAGGTGACTATGCCAACAGCAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGCC
ACACTGACTGCAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGC
CTGACATCTGAGGACTCTGCCATCTATTACTGTGTGAGAAGGAACCTTTGACT
ACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTGTCTCAGGTGGCGGTGGCTCGG
GCGGTGGTGGGTGCGGTGGCGGCGGATCTCAAATTGTTCTCACCCAGTCTCC
AACAAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTGACCATAACCTGCAGTGC
CAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTTCCAGCAGAAGACAGGCACTTC
TCCCAGACTCTGGATTTATAACACATCCAACCTGCCTTCTGGAGTCCCCGCT
CGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCCGAA
TGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAAAGGAGTAGTTACC
CACTCACGTTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

서열번호 173

KVQLQQSGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTFTNYYIGWVKQRPBGHGLEWIGDIFP
GGDYANSNEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCVRRNFDYWQ
GTTLTVSSGGGSGGGGSGGGGSGQIVLTQSPTIMSASPGKVTITCSASSSVSYM
HWFQKKTGTSPLRWIYNTSNLPSGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYY
CQQRSSYPLTFGAGTKLELK

[1780]

[1781]

일부 구현예에서, 본 발명의 CAR에 포함되는 항체는 다중특이적 항체 분자이고, 예를 들어, 복수의 면역글로불린 가변 도메인 서열을 포함하며, 여기서 복수의 제1 면역글로불린 가변 도메인 서열은 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 가지며, 복수의 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열은 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는다. 일부 구현예에서, 다중특이적 항체 분자는 이중특이적 항체 분자이다. 이중특이적 항체는 두 개의 항원에 대한 특이성을 가지며, 제1 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제1 면역글로불린 가변 도메인 서열과 제2 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 제2 면역글로불린 가변 도메인 서열을 특징으로 한다.

[1782]

일부 구현예에서, 세포외 도메인은 "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에서 본원에 기재된 바와 같은 항원 결합 도메인(예: 항원 결합 단편)을 포함한다.

[1783]

일부 구현예에서, 세포외 결합 도메인은 힌지 도메인에 의해 막관통 도메인에 연결된다.

[1784]

하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 상기 본원에 기재된 바와 같이, 바람직하게는 2 내지 10개 아미노산 범위의 길이를 갖는 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커이다.

[1785]

일부 구현예에서, 힌지 도메인은 상기 본원에 기재된 바와 같은 Gly/Ser 링커이다.

[1786]

본 발명에 사용될 수 있는 힌지 도메인의 또 다른 예는 본원에 참조로 포함된 W02012/138475에 기재되어 있다.

[1787]

하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 아미노산 서열 AGSSSSGGSTTGSTT(서열번호 139), 아미노산 서열 GTTAASGSSGSSGA(서열번호 140), 아미노산 서열 SSATATAGTGSSTGST(서열번호 141), 및 아미노산 서열 TSGSTGTAASSTSTST(서열번호 142)를 포함하는 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[1788] 하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC(서열번호 143)의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된다.

[1789] 다른 구현예에서, 힌지 도메인은 KIRRDSS(서열번호 144)에 상응하는 KIR₂DS₂ 힌지이다.

[1790] 하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 CD8 힌지의 아미노산 서열(서열번호 145) 또는 서열번호 145와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함 하거나 이로 구성된다. 하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 핵산 서열(서열번호 146) 또는 서열번호 146과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 인코딩된 CD8 힌지이다.

서열번호 145

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

서열번호 146

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCG
CAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCA
GTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT

[1791]

[1792] 하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 IgG4 힌지의 아미노산 서열(서열번호 147) 또는 서열번호 147과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함 하거나 이로 구성된다.

서열번호 147

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLGLGKM

[1793]

[1794] 하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 핵산 서열(서열번호 148) 또는 서열번호 148과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 인코딩된 IgG4 힌지이다.

서열번호 148

GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGG
GCGGACCCAGCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGAT
CAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGA
CCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGC
CAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTG
CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTG
TAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAA
GGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCA
AGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTT
CTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGA
ACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCT
GTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTT
TAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAG
CCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG

[1795]

[1796]

하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 IgD 힌지의 아미노산 서열(서열번호 149) 또는 서열번호 149와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함 하거나 이로 구성된다.

서열번호 149

RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQ
EERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTW
EVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPP
QRLMALREPAAPVVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQ
REVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTL
NASRSLEVSIVTDH

[1797]

[1798]

하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 서열번호 150의 핵산 서열 또는 서열번호 150과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 인코딩된 IgD 힌지이 다.

서열번호 150

AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCAGGCATCTAGTGTTCTACTGCACAG
CCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACG
CGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAG
AAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATAACC
CAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTA
GAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGC
CCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGA
AGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACT
CACCCCTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTACATGTACTCTA
AATCATCCTAGCCTGCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGCCAGCC
GCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCC
CAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTAGCCCCGCCA
ACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCT
TCGCTCCAGCCCGCCCCACCCAGCCGGGTCTACCACATTCTGGGCCTG
GAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCTAGCCCCAGCCAGCCACATACAC
CTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGT
CTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT

[1799]

[1800]

또 다른 구현예에서, 힌지 도메인은 CD28 힌지의 아미노산 서열(서열번호 151) 또는 서열번호 151과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 151

IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP

[1801]

[1802]

하나의 구현예에서, 힌지 도메인은 서열번호 152의 핵산 서열 또는 서열번호 152와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 인코딩된 CD28 힌지이다.

서열번호 152

ATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGA
ACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCG
GACCTTCTAAGCCC

[1803]

[1804]

본 발명의 키메라 수용체에 사용될 수 있는 막관통 도메인의 예는 T 세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타쇄의 막관통 도메인, 또는 CD28, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD3 제타, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFTR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRP1), CD160,

CD19, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R a, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, PD1, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D, 및/또는 NKG2C의 막관통 도메인을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[1805] 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 그것이 유래되는 분자의 전체 막관통 도메인을 포함할 수 있거나, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함할 수 있다.

[1806] 하나의 구현예에서, 막관통 도메인은 CD8 막관통 도메인의 아미노산 서열(서열번호 153), 또는 서열번호 153과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 또 다른 구현예에서, 막관통 도메인은 서열번호 153의 아미노산 서열의 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변형을 갖지만 20개, 10개 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 적어도 서열번호 153과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 153

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

[1807]

[1808] 또 다른 구현예에서, 막관통 도메인은 CD8 막관통 도메인의 뉴클레오티드 서열(서열번호 154), 또는 서열번호 154와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된다.

서열번호 154

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCCTTCTCCTGTCAC
TGGTTATCACCCCTTTACTGC

[1809]

[1810] 또 다른 구현예에서, 막관통 도메인은 CD28 막관통 도메인의 아미노산 서열(서열번호 155), 또는 서열번호 155와 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 155

FWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV

[1811]

[1812] 하나의 구현예에서, 막관통 도메인은 서열번호 156의 핵산 서열 또는 서열번호 156과 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 인코딩된 CD28 막관통 도메인이다.

서열번호 156

TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAG
TAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTG

[1813]

[1814] 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 재조합적일 수 있다. 특정 구현예에서, 재조합 막관통 도메인은 주로 소수

성 아미노산, 예를 들어, 발린 또는 류신을 포함한다.

- [1815] 본원에 사용된 용어 "**세포내 신호전달 도메인**"은 분자의 세포내 부분을 지칭한다. 세포내 신호전달 도메인은 키메라 수용체 함유 세포의 면역 이펙터 기능을 촉진하는 신호를 생성한다. 키메라 수용체-T 세포에서 면역 이펙터 기능의 예는 사이토카인의 분비를 포함하는 세포용해 활성화, 억제 활성화, 조절 활성화 및 헬퍼 활성을 포함할 수 있다.
- [1816] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 도메인은 적어도 하나의 T 세포 1차 신호전달 도메인 (또는 이로부터 유래된 서열) 및 임의로 T 세포 공동자극 분자의 하나 이상의 세포내 도메인(들) (또는 이로부터 유래된 서열(들))을 포함한다.
- [1817] 본원에 사용된 용어 "**공동자극 분자**" 또는 "**공동자극 세포내 신호전달 도메인**"은 공동자극 리간드와 특이적으로 결합함으로써 T 세포에 의한 공동자극 반응, 예를 들어, 제한되지 않고 증식을 매개하는 T 세포 상의 동족 결합 파트너를 지칭한다. 공동자극 분자는 효율적인 면역 반응에 기여하는 항원 수용체 또는 그들의 리간드 이외의 세포 표면 분자이다. 공동자극 신호전달 도메인은 공동자극 분자의 세포내 부분일 수 있다. 공동자극 분자는 다음의 단백질 패밀리로 표현될 수 있다: TNF 수용체 단백질, 면역글로불린 유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구성 활성화 분자(SLAM 단백질), 및 활성화 NK 세포 수용체.
- [1818] 일부 구현예에서, 세포내 도메인은 그것이 유래되는 분자의 전체 세포내 부분, 또는 전체 천연 세포내 신호전달 도메인, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함할 수 있다.
- [1819] 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 적어도 하나의 1차 신호전달 도메인(예: T 세포 1차 신호전달 도메인) 또는 이의 단편 또는 변이체로 구성된다.
- [1820] 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 적어도 하나의 공동자극 신호전달 도메인(예: T 세포 공동자극 분자 세포내 도메인) 또는 이의 단편 또는 변이체로 구성된다.
- [1821] 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 T 세포 공동자극 분자 또는 이의 단편 또는 변이체의 하나 이상의 세포내 도메인(들)을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 T 세포 공동자극 분자 또는 이의 단편 또는 변이체의 하나 이상의 세포내 도메인(들)으로 구성된다.
- [1822] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 적어도 하나의 공동자극 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체 및 적어도 하나의 1차 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다.
- [1823] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 하나의 공동자극 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체 및 하나의 1차 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체로 구성된다.
- [1824] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 적어도 하나의 공동자극 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체 및 하나의 1차 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고, 재조합 단백질의 발현을 허용하는 발현 시스템을 추가로 포함한다. 하나의 구현예에서, 재조합 단백질은 전염증성 사이토카인, 예를 들어, IL-12이다. 하나의 구현예에서, 상기 전염증성 사이토카인은 CAR-조작된 세포에 의해 방출된다.
- [1825] 본원에 사용된 바와 같이, "발현 시스템"은 시스템의 전사를 위한 추가의 단편에 작동 가능하게 연결된 관심 있는 재조합 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 인코딩하는 핵산 서열을 인코딩하는 단편으로 구성된 선형 또는 원형 DNA 분자를 지칭한다.
- [1826] 일부 구현예에서, 발현 시스템은 전-염증성 사이토카인을 인코딩하는 핵산 서열을 포함한다. 하나의 구현예에서, 발현 시스템은 IL-12를 인코딩하는 핵산 서열을 포함한다.
- [1827] 추가 단편은 프로모터 및 정지 코돈 서열을 포함할 수 있다. 발현 시스템은 복제의 하나 이상의 기원, 하나 이상의 선택 마커 및 리보솜 결합 부위를 인코딩하는 서열을 추가로 함유할 수 있다.
- [1828] "작동 가능하게 연결된"은 단편이 그들이 의도된 대로 기능하도록 배열된다는 것을 의미하며, 예를 들어, 전사가 프로모터에서 시작되면, 코딩된 단편을 통해 코돈을 정지시킨다.
- [1829] 본 발명의 의미에서 "프로모터"는 RNA 폴리머라제의 결합 및 전사의 개시를 허용하는 발현 조절 요소이다.
- [1830] 본 발명의 하나의 구현예에서, 핵산 서열은 "강한" 프로모터의 제어하에 있다. 강한 프로모터는 한편으로는 일반적으로 자연적으로 발생하는 상응하는 RNA 폴리머라제인 RNA 폴리머라제에 대한 프로모터 서열의 높은 결합 친화도와 다른 한편으로는 그 RNA 폴리머라제에 의한 mRNA의 높은 형성 속도를 특징으로 한다.

- [1831] 또 하나의 구현예에서, 핵산 서열은 "유도성 프로모터"의 제어하에 있다. "유도성 프로모터"는 외부 요인, 예를 들어, 인덕터(또한 "유도제"라 칭명됨) 분자의 존재 또는 억제제 분자 또는 증가된 또는 감소된 온도, 삼투압 농도 또는 pH 값과 같은 물리적 요인의 부재에 의해 조절될 수 있는 프로모터이다.
- [1832] 본 발명의 하나의 구현예에서, 프로모터는 또한 구성적일 수 있으며, 즉 한편으로는 유도를 필요로 하지 않거나, 다른 한편으로는 억제 가능성 없이 발현을 조절하는 프로모터일 수 있다. 따라서, 특정 수준에서 지속적이고 꾸준한 발현이 있다.
- [1833] 유리하게는, 관심 있는 재조합 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질의 발현은, 예를 들어, 선택하와 같은 특정 조건에서 유도된다.
- [1834] 하나의 구현예에서, 본 발명에 따르는 발현 시스템은 구성적 발현 시스템이다. 또 다른 구현예에서, 발현 시스템은 유도성 발현 시스템이다.
- [1835] 하나의 구현예에서, 발현 시스템은 발현 카세트이다.
- [1836] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 적어도 하나 또는 두 개의 공동자극 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체 및 적어도 하나의 1차 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 공동자극 도메인은 T 세포 공동자극 분자의 세포내 도메인이다. 특정 구현예에서, 적어도 하나의 1차 신호전달 도메인은 T 세포 1차 신호전달 도메인이다.
- [1837] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 적어도 하나 또는 두 개의 공동자극 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체 및 적어도 하나의 1차 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체 및 재조합 전염증성 사이토카인의 발현을 허용하는 적어도 하나의 발현 시스템을 포함한다.
- [1838] 따라서, 하나의 구현예에서, CAR-조작된 세포는 재조합 전염증성 사이토카인, 예를 들어, IL-12를 발현한다.
- [1839] 본 발명의 일부 구현예에서, 1차 신호전달 도메인은 CD3 제타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, 공통 FcR 감마 (FCER1G), FcR 베타(Fc 엡실론 Rib), CD79a, CD79b, Fc감마 RIIa, DAP10, 및 DAP12 및 이로부터 유래된 서열로 이루어진 그룹으로부터 선택된 단백질의 신호전달 도메인을 포함한다.
- [1840] 일부 구현예에서, 1차 신호전달 도메인은 CD3 제타의 적어도 하나의 기능적 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하거나 이로 구성되는 T 세포 1차 신호전달 도메인이다.
- [1841] 일부 구현예에서, T 세포 1차 신호전달 도메인은 서열번호 157의 CD3 제타 아미노산 서열 또는 서열번호 157과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 157

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRK
NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL
HMQALPPR

- [1842]
- [1843] 일부 구현예에서, CD3 제타 1차 신호전달 도메인은 서열번호 157의 아미노산 서열과 비교하여 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변형을 갖지만 20개, 10개 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열, 또는 서열번호 157과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.
- [1844] 따라서, 일부 구현예에서, T 세포 1차 신호전달 도메인을 인코딩하는 핵산 서열은 서열번호 162의 CD3 제타 도메인 핵산 서열 또는 서열번호 162와 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 이로 구성된다.
- [1845] 일부 구현예에서, CD3 제타 1차 신호전달 도메인은 서열번호 157의 서열로부터 또는 서열번호 157과 적어도 약 70% 동일성을 갖는 서열로부터의 적어도 2, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 또는 112개의 아미노산, 예를 들어, 서열번호 157로부터의 적어도 2, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 또는 112개

의 인접 아미노산을 포함한다.

- [1846] 일부 구현예에서, CD3 제타 1차 신호전달 도메인은 서열번호 162의 서열로부터 또는 서열번호 162와 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 서열로부터의 적어도 6, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 또는 336개 뉴클레오타이드, 예를 들어, 서열번호 162로부터의 적어도 6, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 또는 336개의 인접 뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된다.

서열번호 162

```
AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCA
GAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGT
TTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAA
GGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATG
GCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAA
GGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
CGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC
```

- [1847]
- [1848] 일부 구현예에서, 자극 방식으로 작용하는 T 세포 1차 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프(ITAMS)로서 공지된 신호전달 모티프를 포함할 수 있다. 본 발명에서 특히 사용되는 ITAM 함유 T 세포 1차 세포내 신호전달 도메인의 예는 CD3 제타, 공통 FcR 감마 (FCER1G), Fc 감마 RIIa, FcR 베타 (Fc 엡실론 R1b), CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD66b, CD79a, CD79b, DAP10, 및 DAP12의 것들 (또는 이들로부터 유래된 것)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [1849] 일부 구현예에서, T 세포 1차 신호전달 도메인은 천연 ITAM 도메인과 비교하여 변경된(예: 증가된 또는 감소된) 활성을 갖는 변형된 ITAM 도메인, 예를 들어, 돌연변이된 ITAM 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 1차 신호전달 도메인은 변형된 ITAM-함유 1차 세포내 신호전달 도메인, 예를 들어, 최적화된 및/또는 절단된 ITAM-함유 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 1차 신호전달 도메인은 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 ITAM 모티프를 포함할 수 있다.
- [1850] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 하나 이상의 공동자극 신호전달 도메인과 조합된 T 세포 1차 신호전달 도메인(예: CD3 제타 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체)을 포함하며, 여기서 상기 공동자극 신호전달 도메인은 전체 공동자극 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.
- [1851] 일부 구현예에서, 공동자극 신호전달 도메인은 T 세포 공동자극 분자의 세포내 또는 세포질 도메인이다.
- [1852] 일부 구현예에서, 공동자극 신호전달 도메인은 T 세포 공동자극 분자의 신호전달 도메인이다.
- [1853] 공동자극 신호전달 도메인의 예는 4-1BB (CD137), ICOS (CD278), CD27, CD28, CTLA-4 (CD152), PD-1, MHC 클래스 I 분자, BTLA, 톨 리간드 수용체, OX40, CD30, CD40, 림프구 기능-관련 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83, CDS, ICAM-1, GITR, ARHR, BAFRR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160 (BY55), CD19, CD19a, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2ra, IL6Ra, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R 알파, IL-13RA1/RA2, IL-33R(IL1RL1), IL-10RA/RB, IL-4R, IL-5R (CSF2RB), IL-21R, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a/CD18, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, ITGB7, NKG2D, NKG2C, CD95, TGFbR1/2/3, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, 공통 감마 쇄와 특이적으로 결합하는 리간드, CD83, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D와 특이적으로 결합하는 리간드, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 단백질의 세포내 또는 세포질 신호전달 도메인을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [1854] 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 CD28, 4-1BB, OX40, ICOS, CD27 및 DAP10으로 이루어진 그룹으로부터 선택된

T 세포 공동자극 분자의 적어도 하나의 세포내 또는 세포질 신호전달 도메인을 포함한다.

[1855] 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 적어도 하나의 공동자극 신호전달 도메인을 포함하고, 여기서 상기 공동자극 신호전달 도메인은 전체 공동자극 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[1856] 일부 구현예에서, T 세포 공동자극 신호전달 도메인은 4-1BB 공동자극 세포내 신호전달 도메인의 아미노산 서열 (예를 들어, 서열번호 163의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성됨) 또는 서열번호 163과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, T 세포 공동자극 신호전달 도메인은 서열번호 163의 아미노산 서열과 비교하여 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변형을 갖지만 20개, 10개 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 163

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

[1857]

[1858] 일부 구현예에서, T 세포 공동자극 신호전달 도메인은 4-1BB 공동자극 세포내 신호전달 도메인 뉴클레오티드 서열(예: 서열번호 164의 서열을 포함하거나 이로 구성됨), 또는 서열번호 164와 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된다.

서열번호 164

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGA
CCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCAGAA
GAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG

[1859]

[1860] 일부 구현예에서, 4-1BB 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 163의 서열로부터 또는 서열번호 163과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 서열로부터의 적어도 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 또는 42개의 아미노산, 예를 들어, 서열번호 163으로부터의 적어도 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 또는 42개의 인접 아미노산을 포함한다.

[1861] 일부 구현예에서, 4-1BB 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 164의 서열로부터 또는 서열번호 164와 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 서열로부터의 적어도 6, 18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81, 96, 99, 108, 117 또는 126개의 뉴클레오티드, 예를 들어, 서열번호 164로부터의 적어도 6, 18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81, 96, 99, 108, 117 또는 126개의 인접 뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된다.

[1862] 일부 구현예에서, T 세포 공동자극 신호전달 도메인은 CD28 공동자극 세포내 신호전달 도메인의 아미노산 서열 (예를 들어, 서열번호 167의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성됨) 또는 서열번호 167과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, T 세포 공동자극 신호전달 도메인은 서열번호 167의 아미노산 서열과 비교하여 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변형을 갖지만 20개, 10개 또는 5개 이하의 변형을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 167

RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

[1863]

[1864] 일부 구현예에서, T 세포 공동자극 신호전달 도메인은 CD28 공동자극 세포내 신호전달 도메인 뉴클레오티드 서

열(예를 들어, 서열번호 168의 서열을 포함하거나 이로 구성됨), 또는 서열번호 168과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된다.

서열번호 168

AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCC
CGCCGCCCGGGCCCAACCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGC
GACTTCGCAGCCTATCGCTCC

[1865]

[1866]

일부 구현예에서, CD28 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 167의 서열로부터 또는 서열번호 167과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 서열로부터의 적어도 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 또는 41개의 아미노산, 예를 들어, 서열번호 167로부터의 적어도 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 또는 41개의 인접 아미노산을 포함한다.

[1867]

일부 구현예에서, CD28 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 168의 서열로부터 또는 서열번호 168과 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 서열로부터의 적어도 6, 18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81, 96, 99, 108, 117 또는 123개의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 서열번호 168로부터의 적어도 6, 18, 27, 36, 45, 54, 63, 72, 81, 96, 99, 108, 117 또는 123개의 인접 뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩된다.

[1868]

본 발명의 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 T 세포 공동자극 분자의 적어도 하나의 세포내 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 적어도 하나의 세포내 도메인은 4-1BB의 세포내 도메인 및 CD28의 세포내 도메인으로부터 선택될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 전체 공동자극 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[1869]

본 발명의 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 T 세포 공동자극 분자의 적어도 두 개의 세포내 도메인의 조합을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 공동자극 세포내 신호전달 도메인은 전체 공동자극 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[1870]

일부 구현예에서, 키메라 수용체는 4-1BB 공동자극 세포내 신호전달 도메인의 아미노산 서열(예를 들어, 서열번호 163의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성됨) 또는 이의 단편 또는 변이체 및 CD28 공동자극 세포내 신호전달 도메인의 아미노산 서열(예를 들어, 서열번호 167의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성됨) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다.

[1871]

본 발명의 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 적어도 세 개의 공동자극 세포내 신호전달 도메인을 포함할 수 있으며, 여기서 상기 도메인은 전체 공동자극 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[1872]

일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은

[1873]

- 서열번호 163의 아미노산 서열을 갖는 4-1BB 공동자극 세포내 신호전달 도메인, 또는 이의 단편 또는 변이체, 및/또는 서열번호 167의 아미노산 서열을 갖는 CD28 공동자극 세포내 신호전달 도메인; 및/또는

[1874]

- 서열번호 157의 아미노산 서열을 갖는 CD3 제타 1차 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고;

[1875]

여기서, 상기 세포내 도메인에 포함된 서열은 동일한 프레임에서 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다.

[1876]

따라서, 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인을 인코딩하는 핵산 서열은

[1877]

- 서열번호 164의 4-1BB 공동자극 세포내 신호전달 도메인 핵산 서열 또는 이의 단편 또는 변이체, 및/또는 서열번호 168의 CD28 공동자극 세포내 신호전달 도메인 핵산 서열 또는 이의 단편 또는 변이체; 및/또는

[1878]

- 서열번호 162의 CD3 제타 1차 세포내 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고;

[1879]

여기서, 상기 세포내 도메인에 포함된 서열은 동일한 프레임에서 단일 폴리펩티드 쇄로서 발현된다.

- [1880] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 무작위로 또는 특정 순서로 서로 연결될 수 있는 적어도 두 개의 상이한 도메인(예: 1차 신호전달 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체 및 T 세포 공동자극 분자의 적어도 하나의 세포내 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체)을 포함한다.
- [1881] 임의로, 예를 들어, 2 내지 10개의 아미노산(예: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 아미노산) 길이의 짧은 올리고- 또는 폴리펩티드 링커는 별개의 신호전달 도메인 사이의 결합을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 글리신-세린 이중선(GS)이 적합한 링커로서 사용된다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산, 예를 들어, 알라닌(A), 글리신(G)이 적합한 링커로서 사용된다. 링커의 다른 예가 본원에 기재되어 있다.
- [1882] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 2개 이상(예: 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상)의 공동자극 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 2개 이상(예: 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상)의 공동자극 신호전달 도메인 중 임의의 것 또는 전부는 링커 분자, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 링커 분자에 의해 분리된다.
- [1883] 일부 구현예에서, 본 발명의 키메라 수용체의 세포내 신호전달 도메인은 CD3 제타의 1차 세포내 신호전달 도메인(예: 서열번호 157) 및 4-1BB의 공동자극 세포내 신호전달 도메인(예: 서열번호 163)을 포함한다.
- [1884] 일부 구현예에서, 본 발명의 키메라 수용체의 세포내 신호전달 도메인은 CD3 제타의 1차 세포내 신호전달 도메인(예: 서열번호 157) 및 CD28의 공동자극 세포내 신호전달 도메인(예: 서열번호 167)을 포함한다.
- [1885] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR은 본원에 기재된 바와 같은 세포의 결합 도메인, 본원에 기재된 바와 같은 막관통 도메인, 본원에 기재된 바와 같은 세포내 신호전달 도메인, 및 임의로 본원에 기재된 바와 같은 스페이서 또는 힌지 도메인의 임의의 조합을 포함한다.
- [1886] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR은 태그, 예를 들어, 품질 제어, 농축, 생체내 추적 등을 위한 태그를 추가로 포함한다. 상기 태그는 N-말단, C-말단 및/또는 내부적으로 국부화될 수 있다. 본 발명의 CAR에 사용될 수 있는 태그의 예는 당업자에 의해 익히 공지되어 있다.
- [1887] 제1 구현예에 따르면, 본 발명의 CAR은 적어도 하나의 세포의 CD45RC 결합 도메인, 임의로 세포의 힌지 도메인, 적어도 하나의 막관통 도메인, 및 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [1888] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1889] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1890] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 145); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1891] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 145); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1892] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgG4의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 147); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1893] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgG4의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 147); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1894] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgD의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 149); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1895] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgD의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 149); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호

157)을 포함한다.

- [1896] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD28의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 151); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1897] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD28의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 151); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1898] 제2 구현예에 따르면, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인, 임의로 세포의 힌지 도메인, 막관통 도메인, T 세포 공동자극 분자의 단일 세포내 도메인 및 T 세포 1차 신호전달 도메인을 포함한다.
- [1899] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1900] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1901] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1902] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1903] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 145); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1904] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 145); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1905] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 145); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1906] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD8의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 145); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1907] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgG4의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 147); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1908] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgG4의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 147); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1909] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgG4의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 147); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1910] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgG4의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 147); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및

- [1925] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgG4의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 147); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1926] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgD의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 149); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1927] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; IgD의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 149); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1928] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD28의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 151); CD8의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 153); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1929] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 CD45RC 결합 도메인; CD28의 힌지 도메인(바람직하게는 서열번호 151); CD28의 막관통 도메인(바람직하게는 서열번호 155); 4-1BB의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 163); CD28의 세포내 도메인(바람직하게는 서열번호 167); 및 CD3-제타 1차 신호전달 도메인(바람직하게는 서열번호 157)을 포함한다.
- [1930] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 (i) CD45RC 결합 도메인, (ii) 인간 CD8의 힌지 영역, (iii) 인간 CD8의 막관통 도메인, (iv) 인간 CD28의 세포내 도메인 및 (v) 인간 CD3 ζ 3'의 세포내 도메인을 포함한다.
- [1931] 하나의 구현예에서, 인간 CD8의 힌지 영역, 인간 CD8의 막관통 도메인, 인간 CD28의 세포내 도메인 및 인간 CD3 ζ 3'의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 일부는 서열번호 169의 아미노산 서열 또는 서열번호 169와 적어도 약 95%, 바람직하게는 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열에 상응한다.
- [1932] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 서열번호 169의 아미노산 서열 또는 서열번호 169와 적어도 약 95%, 바람직하게는 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 서열 또는 아미노산 서열에 연결된 CD45RC 결합 도메인을 포함한다.

서열번호 169

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT
CGVLLLSLVITLYCRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAY
RSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPR
RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY
DALHMQALPPR

- [1933]
- [1934] 하나의 구현예에서, 인간 CD8의 힌지 영역, 인간 CD8의 막관통 도메인, 인간 CD28의 세포내 도메인 및 인간 CD3 ζ 3'의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 일부는 서열번호 170의 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 170과 적어도 약 95%, 바람직하게는 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열에 상응한다.
- [1935] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 CAR은 (i) CD45RC 결합 도메인, (ii) 인간 CD8의 힌지 영역, (iii) 인간 CD8의 막관통 도메인, (iv) 인간 CD28의 세포내 도메인 및 (v) 인간 CD3 ζ 3'의 세포내 도메인을 포함한다.
- [1936] 하나의 구현예에서, 인간 CD8의 힌지 영역, 인간 CD8의 막관통 도메인, 인간 CD28의 세포내 도메인 및 인간 CD3 ζ 3'의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 일부는 서열번호 169의 아미노산 서열, 또는 서열번호 169와 적어도 약 95%, 바람직하게는 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 임의의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된

다.

- [1937] 하나의 구현예에서, CD45RC 결합 도메인, 인간 CD8의 힌지 영역, 인간 CD8의 막관통 도메인, 인간 CD28의 세포 내 도메인 및 인간 CD3 ζ 의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 일부는 서열번호 171의 아미노산 서열, 또는 서열 번호 171과 적어도 약 95%, 바람직하게는 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 임의의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

서열번호 170

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCG
CAGCCCCGTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCA
GTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCT
TGGCCGGGACTTGTGGGGTCCCTTCTCCTGTCAGTGGTTATCACCTTTACTGC
AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCC
CGCCGCCCCGGGCCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGC
GACTTCGCAGCCTATCGCTCCAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCC
CCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
CGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGA
GATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATG
AACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAA
GGCGAGCGCCGGAGGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGT
ACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCT
CGC

서열번호 171

KVQLQQSGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTFTNYYIGWVKQRPBGHGLEWIGDIFP
GGDYANSNEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCVRRNFDYWGQ
GTTLTVSSGGGSGGGGSGGGGSGQIVLTQSPTIMASPGKVTITCSASSSVSYM
HWFQKKTGTSPRLWIYNTSNLPSGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYY
CQQRSSYPLTFGAGTKLELKTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV
HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRSKRSRLHSDYMNMTPRRP
GPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE
YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

- [1938]
- [1939] 본 발명은 또한 본 발명의 CAR을 인코딩하는 핵산에 관한 것이다.
- [1940] 따라서, 본 발명은 또한 본원에 기재된 바와 같은 CAR을 인코딩하는 핵산 서열에 관한 것이며, 여기서 상기 핵산 서열은 다음을 포함한다:
- [1941] - 세포의 결합 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열로서, 상기 결합 도메인이 상기 인간 CD45RC에 결합하는, 세포의 결합 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열,
- [1942] - 임의로, 세포의 힌지 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열,
- [1943] - 막관통 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열, 및
- [1944] - 세포내 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열로서, 상기 세포내 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열이 1차 세포내 신호전달 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열 및 임의로 공동자극 세포내 신호전달 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열을 포함하는, 세포내 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열.
- [1945] 일부 구현예에서, 세포의 결합 도메인의 적어도 하나의 핵산 서열은 "항체 또는 항원 결합 단편" 섹션에서 상기

본원에 개시된 hCD45RC에 결합하는 항체 또는 이의 결합 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하거나 이로 구성된다.

[1946]

일부 구현예에서, 본 발명에 따른 CAR을 인코딩하는 핵산 서열은 서열번호 172의 서열 또는 서열번호 172에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 갖는다.

서열번호 172

```
AAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGCGCTGAGCTGGTTAGGCCTGGGACTTCA
GTGAAGATGTCTTGCAAGGCCGCTGGATACACCTTCACTAACTACTACATA
GGTTGGGTAAAGCAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATCGGAGATATT
TTCCCTGGAGGTGACTATGCCAACAGCAATGAGAAGTTCAAGGGCAAAGCC
ACACTGACTGCAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGC
CTGACATCTGAGGACTCTGCCATCTATTACTGTGTGAGAAGGAACTTTGACT
ACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTGTCTCAGGTGGCGGTGGCTCGG
GCGGTGGTGGGTCTGGGTGGCGGCGGATCTCAAATTGTTCTCACCCAGTCTCC
AACAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTGACCATAACCTGCAGTGC
CAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTTCCAGCAGAAGACAGGCACTTC
TCCCAGACTCTGGATTTATAACACATCCAACCTGCCTTCTGGAGTCCCCGCT
CGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCCGAA
TGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAAAGGAGTAGTTACC
CACTCACGTTCGGTGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAAACACGACGCCAG
CGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCC
TGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGG
GGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTT
GTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTTACTGCAGGAGTAAGAG
GAGCAGGCTCCTGCACAGTGAATGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCGG
GCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGC
CTATCGCTCCAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCA
GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGG
AGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAA
AGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAA
GATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCG
GAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAA
GGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC
```

[1947]

[1948]

하나의 구현예에서, 본 발명의 핵산은 단리된 핵산이다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 단리된 핵산은 정제된다.

[1949]

하나의 구현예에서, 단리된 핵산은 다음으로 정제된다:

[1950]

(1) 흡광도 방법 또는 형광 방법에 의해(예: 260 및 280nm에서의 흡광도의 비($A_{260/280}$))를 측정하여) 결정된 바와 같은 핵산의 80중량%, 85중량%, 90중량%, 91중량%, 92중량%, 93중량%, 94중량%, 95중량% 이상 초과, 가장 바람직하게는 96중량%, 97중량%, 98중량% 또는 99중량% 이상; 또는

[1951]

(2) 아가로스 겔 전기영동에 의해, 삽입화제, 예를 들어, 브롬화에티듐, SYBR 그린, 겔그린 등을 사용하여 나타

낸 바와 같은 균질성.

- [1952] 당업자는 코돈 최적화에 의해서와 같이, 예를 들어, 재조합 생산 속도를 향상시키기 위해, 핵산 서열을 변형시키는 것을 목표로 하는 분자 생물학 방법에 익숙하다는 것이 추가로 이해된다.
- [1953] 본 발명은 또한 본원에 기재된 바와 같은 CAR-인코딩 핵산 서열을 포함하는 벡터를 제공한다.
- [1954] 본 발명에 사용될 수 있는 벡터의 예는 DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 파지미드, 파지 유도체, 바이러스 및 코스미드를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [1955] 바이러스 벡터 기술은 당업계에 익히 공지되어 있으며, 예를 들어, 문헌(참조: Sambrook et al. (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York) 및 기타 바이러스학 및 분자 생물학 매뉴얼에 기재되어 있다. 벡터로서 유용한 바이러스는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스, 헤르페스 바이러스 및 렌티바이러스를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [1956] 본원에 사용된 용어 "렌티바이러스"는 레트로비리과 패밀리의 속을 지칭한다. 렌티바이러스는 비분열 세포를 감염시킬 수 있다는 점에서 레트로바이러스 중에서 독특하고; 그들은 숙주 세포의 DNA에 상당한 양의 유전 정보를 전달할 수 있으므로 유전자 전달 벡터의 가장 효율적인 방법 중 하나이다. HIV, SIV 및 FIV는 모두 렌티바이러스의 예이다.
- [1957] 일반적으로, 적합한 벡터는 적어도 하나의 유기체에서 기능적인 복제의 기원, 프로모터 서열, 편리한 제한 엔도뉴클레아제 부위, 및 하나 이상의 선택 가능한 마커를 함유한다(참조: 예를 들어, PCT 특허 공개 WO 01/96584 및 W001/29058 및 미국 특허 6,326,193, 본원에 참조로 포함됨).
- [1958] 포유류 세포로의 유전자 전달을 위해 다수의 바이러스 기반 시스템이 개발되었다. 예를 들어, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편리한 플랫폼을 제공한다. 선택된 유전자는 벡터에 삽입될 수 있고, 당업계에 공지된 기술을 사용하여 레트로바이러스 입자에 패키징될 수 있다. 이어서, 재조합 바이러스는 단리되고 생체 내 또는 생체외에서 대상체의 세포로 전달될 수 있다. 다수의 레트로바이러스 시스템이 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다. 또한, 다수의 아데노바이러스 벡터가 당업계에 공지되어 있다. 일부 구현예에서, 렌티바이러스 벡터가 사용된다.
- [1959] 추가의 전사 활성 요소, 예를 들어, 프로모터 및 인핸서는 전사 개시의 빈도를 조절한다. 전형적으로, 이들 코어 프로모터는 개시 부위의 업스트림 30-110bp 영역에 위치하지만, 다수의 프로모터가 최근에 개시 부위의 다운스트림에 기능적 요소를 함유하는 것으로 나타날 뿐만 아니라 인핸서 요소는 일반적으로 개시 부위의 업스트림 500-2000bp에 위치한다. 프로모터 요소 사이의 간격은 빈번하게 유연하므로, 요소가 서로 반전되거나 서로에 대해 이동할 때 프로모터 기능이 보존된다. 티미딘 키나제(tk) 프로모터에서, 프로모터 요소 사이의 간격은 활성이 감소하기 시작하기 전에 50bp 간격으로 증가될 수 있다. 프로모터에 따라, 개별 요소가 전사를 활성화시키기 위해 협력적으로 또는 독립적으로 기능할 수 있는 것으로 보인다.
- [1960] 적합한 프로모터의 일례는 즉각적인 초기 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터 서열이다. 이러한 프로모터 서열은 이에 작동 가능하게 연결된 임의의 폴리뉴클레오티드 서열의 높은 수준의 발현을 유도할 수 있는 강력한 구성적 프로모터 서열이다. 적합한 프로모터의 또 다른 예는 신장 성장 인자-1a(EF-1a)이다. 적합한 프로모터의 또 다른 예는 포스포글리세레이트 키나제(PGK) 프로모터이다. 그러나, 심미안 바이러스 40(SV40) 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스(MMTV), 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 긴 말단 반복(LTR) 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, 엡스타인-바 바이러스 즉시 초기 프로모터, 및 루우스 육종 바이러스 프로모터를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 구성적 프로모터 서열 뿐만 아니라 인간 유전자 프로모터, 예를 들어, 제한되지 않고 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 헤모글로빈 프로모터, 및 크레아틴 키나제 프로모터가 또한 사용될 수 있다. 또한, 본 발명은 구성적 프로모터의 사용으로 제한되지 않아야 한다. 유도성 프로모터도 본 발명의 일부로서 고려된다. 유도성 프로모터의 사용은 이러한 발현이 목적시될 때 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드 서열의 발현을 턴온하거나 발현이 목적시되지 않을 때 발현을 턴 오프할 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 유도성 프로모터의 예는 메탈로티오닌 프로모터, 글루코코르티코이드 프로모터, 프로게스테론 프로모터, 및 테트라사이클린 프로모터를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 또한, 둘 이상의 유전자의 효율적이고 배위된 발현을 허용하는 양방향 프로모터는 또한 본 발명에서 관심의 대상이 될 수 있다. 양방향 프로모터의 예는 i) 사이토메갈로바이러스(CMV) 또는 마우스 유방 종양 바이러스(MMTV) 계놈으로부터 유래된 제1 최소 프로모터 서열 및 ii) 동물 유전자로부터 유래된 완전 효율적인 프로모터 서열을 포함하는 양방향 프로모터를 개시하는 본원에 참조로 포함된 미국 특허 공보 2006/200869에 Luigi Naldini에 의해 기재된 프로모터를

포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

- [1961] CAR 폴리펩티드 또는 이의 부분의 발현을 평가하기 위해, T 세포 내로 도입되는 발현 벡터는 또한 바이러스 벡터를 통해 형질감염되거나 감염되고자 하는 세포의 집단으로부터 발현 세포의 확인 및 선택을 용이하게 하기 위해 선택 가능한 마커 유전자, 예를 들어, CD34, CD271 또는 리포터 유전자 또는 둘 다를 함유할 수 있다. 다른 측면에서, 선택 가능한 마커는 별개의 DNA 조각 상으로 운반될 수 있고 공동-형질감염 절차에 사용될 수 있다. 선택 가능한 마커 및 리포터 유전자는 모두 적절한 조절 서열과 인접하여 숙주 세포에서 발현을 가능하게 할 수 있다. 유용한 선택 가능한 마커는, 예를 들어, 항생제-내성 유전자, 예를 들어, 네오마이신 등을 포함한다.
- [1962] 본 발명의 일부 구현예에서, 자살 유전자 기술이 사용될 수 있다. 상이한 자살 유전자 기술들이 그들의 작용 메커니즘에 따라 당업계에 기재되어 있다(참조: 예를 들어, Jones et al., *Frontiers in Pharmacology* **5**:254 (2014)). 무독성 약물을 독성 약물로 전환시키는 유전자 지시된 효소 프로드럭 요법(GDEPT)의 예는 단순 포진 바이러스 티미딘 키나제(HSV-TK) 및 시토신 데아미나제(CD)를 포함한다. 다른 예는, 예를 들어, 유도성 Fas(iFas) 또는 유도성 Caspase 9(iCasp9) 시스템과 같은 아포토시스 성분에 연결된 약물 결합 도메인으로 구성된 키메라 단백질이다. 다른 예는 항-c-myc 항체의 투여에 의해 그의 결실을 유도하도록 조작된 세포의 표면에서 c-myc의 과발현을 유도하는 것과 같은 치료 항체에 의해 매개되는 시스템을 포함한다. EGFR의 사용은 c-myc 시스템과 비교하여 유사한 시스템으로서 기재된다.
- [1963] 리포터 유전자는 잠재적으로 형질감염된 세포를 확인하고 조절 서열의 기능성을 평가하는데 사용된다. 일반적으로, 리포터 유전자는 수용자 유기체 또는 조직에 존재하거나 이에 의해 발현되지 않고, 그의 발현이 일부 용이하게 검출 가능한 특성, 예를 들어, 효소 활성화에 의해 나타나는 폴리펩티드를 인코딩하는 유전자이다. 리포터 유전자의 발현은 DNA가 수용자 세포 내로 도입된 후 적절한 시간에 검정된다. 적합한 리포터 유전자는 루시페라제, 베타-갈락토시다제, 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제, 분비된 알칼리성 포스파타제, 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 인코딩하는 유전자를 포함할 수 있다(참조: 예를 들어, Ui-Tei et al.,
- [1964] *FEBS Letters* **479**:79-82 (2000)). 적합한 발현 시스템은 익히 공지되어 있고, 공지된 기술을 사용하여 제조되거나 상업적으로 취득될 수 있다. 일반적으로, 리포터 유전자의 최고 수준의 발현을 나타내는 최소 5' 플랜킹 영역을 갖는 작제물은 프로모터로서 동정된다. 이러한 프로모터 영역은 리포터 유전자에 연결될 수 있고, 프로모터-구동 전사를 조절하는 능력에 대해 체제를 평가하는데 사용될 수 있다.
- [1965] 유전자를 세포 내로 도입하고 발현시키는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 발현 벡터의 맥락에서, 벡터는 당업계의 임의의 방법에 의해 숙주 세포, 예를 들어, 포유류, 박테리아, 효모, 또는 곤충 세포 내로 용이하게 도입될 수 있다. 예를 들어, 발현 벡터는 물리적, 화학적, 또는 생물학적 수단에 의해 숙주 세포 내로 전달될 수 있다.
- [1966] 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전, 리포펙션, 입자 폭격, 미세주입, 전기천공 등을 포함한다. 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 생산하는 방법은 당업계에 익히 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌(참조: Sambrook et al. (2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York))을 참조한다. 본 발명의 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 인산칼슘 형질감염을 사용하여 숙주 세포 내로 도입된다.
- [1967] 관심 있는 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 생물학적 방법은 DNA 및 RNA 벡터의 사용을 포함한다. 바이러스 벡터, 특히 레트로바이러스 벡터는 포유류, 예를 들어, 인간 세포에 유전자를 삽입하기 위해 가장 널리 사용되는 방법이 되었다. 다른 바이러스 벡터는 렌티바이러스, 폭스바이러스, 단순 포진 바이러스 I, 아데노바이러스 및 아데노-관련 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,350,674호 및 제5,585,362호를 참조한다.
- [1968] 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 화학적 수단은 콜로이드 분산 시스템, 예를 들어, 거대분자 복합체, 나노캡슐, 미소구, 비드, 및 수중유 에멀전, 미셀, 혼합 미셀, 및 리포솜을 포함하는 지질-기반 시스템을 포함한다. 시험관내 및 생체내에서 전달 비히클로서 사용하기 위한 예시적인 콜로이드 시스템은 리포솜(예: 인공 막 소포)이다.
- [1969] 비바이러스 전달 시스템이 이용되는 경우에, 예시적인 전달 비히클은 리포솜이다. 지질 제형의 사용은 핵산을 숙주 세포 내로 도입하기 위해 고려된다(시험관내, 생체의 또는 생체내). 다른 측면에서, 핵산은 지질과 관련될 수 있다. 지질과 관련된 핵산은 리포솜의 수성 내부에 캡슐화될 수 있고, 리포솜의 지질 이중층 내에 산재되고, 리포솜 및 올리고뉴클레오티드 둘 다와 관련되는 연결 분자를 통해 리포솜에 부착되고, 리포솜에 포획되

고, 리포솜과 복합체화되고, 지질을 함유하는 용액에 분산되고, 지질과 혼합되고, 지질과 결합되고, 지질에 현탁액으로서 함유되고, 미셀을 함유하거나 복합체화되거나, 또는 달리 지질과 관련된다. 지질, 지질/DNA 또는 지질/발현 벡터 관련 조성물은 용액 중의 임의의 특정 구조로 제한되지 않는다. 예를 들어, 그들은 이중층 구조, 미셀로서, 또는 "붕괴된" 구조로 존재할 수 있다. 그들은 또한 단순히 용액에 산재되어 크기 또는 모양이 균일하지 않은 응집체를 형성할 수 있다. 지질은 천연 또는 합성 지질일 수 있는 지방 물질이다. 예를 들어, 지질은 세포질에서 자연적으로 발생하는 지방 액적뿐만 아니라 장쇄 지방족 탄화수소 및 그들의 유도체, 예를 들어, 지방산, 알코올, 아민, 아미노 알콜 및 알데히드를 함유하는 화합물의 부류를 포함한다.

[1970] 사용하기에 적합한 지질은 상업적 공급원으로부터 취득될 수 있다. 예를 들어, 디미리스틸 포스파티딜콜린 ("DMPC")은 Sigma(St. Louis, MO)로부터 입수될 수 있고; 디세틸 포스페이트("DCP")는 K & K Laboratories(Plainview, NY)로부터 입수될 수 있고; 콜레스테롤("Choi")은 Calbiochem-Behring으로부터 입수될 수 있으며; 디미리스틸 포스파티딜글리세롤("DMPG") 및 다른 지질은 Avanti Polar Lipids, Inc.(Birmingham, AL)로부터 입수될 수 있다. 클로로포름 또는 클로로포름/메탄올 중의 지질의 스톱 용액은 약 -20°C에서 저장될 수 있다. 클로로포름은 메탄올보다 더 쉽게 증발되기 때문에 유일한 용매로 사용된다. "리포솜"은 밀폐된 지질 이중층 또는 응집체의 생성에 의해 형성된 다양한 단일 및 다중층 지질 비히클을 포함하는 일반적인 용어이다. 리포솜은 인지질 이중층 막 및 내부 수성 매질을 갖는 수포 구조를 갖는 것으로 특성화될 수 있다. 다중층 리포솜은 수성 매질에 의해 분리된 다중 지질 층을 갖는다. 그들은 인지질이 과도한 수용액에 현탁될 때 자발적으로 형성된다. 지질 성분은 폐쇄 구조의 형성 전에 자기 재배열을 겪고, 지질 이중층 사이에 물과 용해된 용질을 포획한다(참조: Ghosh et al., 1991 *Glycobiology* 5:505-10). 그러나, 용액에서 정상 수포 구조와는 상이한 구조를 갖는 조성물이 또한 포함된다. 예를 들어, 지질은 미셀 구조를 가정하거나 단순히 지질 분자의 불균일 응집체로서 존재할 수 있다. 또한, 리포펙타민-핵산 복합체가 고려된다.

[1971] 외인성 핵산을 숙주 세포 내로 도입하기 위해 사용되는 방법에 관계없이, 숙주 세포에서 재조합 DNA 서열의 존재를 확인하기 위해, 다양한 검정이 수행될 수 있다. 이러한 검정은, 예를 들어, 당업자에게 익히 공지된 "분자 생물학적" 검정, 예를 들어, 서던 및 노던 블롯팅, RT-PCR 및 PCR; 예를 들어, 면역학적 수단(ELISA 및 웨스턴 블롯)에 의해 또는 본 발명의 범위 내에 속하는 제제를 동정하기 위한 본원에 기재된 검정에 의해 특정 펩티드의 존재 또는 부재를 검출하는 것과 같은 "생화학적" 검정을 포함한다.

[1972] 일부 구현예에서, 본 발명의 면역 세포는 RNA의 도입을 통해 변형된다. 일부 구현예에서, 시험관내 전사된 RNA CAR은 일시적인 형질감염의 한 형태로서 세포에 도입될 수 있다. RNA는 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)-생성 주형을 사용하는 시험관내 전사에 의해 생산된다. 임의의 공급원으로부터 관심 있는 DNA는 적절한 프라이머 및 RNA 폴리머라제를 사용하여 시험관내 mRNA 합성을 위한 주형으로 PCR에 의해 직접 전환될 수 있다. DNA의 공급원은, 예를 들어, 게놈 DNA, 플라스미드 DNA, 파지 DNA, cDNA, 합성 DNA 서열 또는 DNA의 임의의 다른 적절한 공급원일 수 있다. 특정 구현예에서, 시험관내 전사를 위한 주형은 본 발명의 CAR이다.

[1973] 일부 구현예에서, PCR에 사용되는 DNA는 개방 판독 프레임을 함유한다. DNA는, 예를 들어, 유기체의 게놈으로부터의 천연 DNA 서열로부터 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, DNA는 관심 있는 전장 유전자 또는 유전자의 일부이다. 유전자는 5' 및/또는 3' 비번역 영역(UTR)의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다. 유전자는 엑손 및 인트론을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, PCR에 사용되는 DNA는 인간 유전자이다. 일부 구현예에서, PCR에 사용되는 DNA는 5' 및 3' UTR을 포함하는 인간 유전자이다. DNA는 대안적으로 천연 유기체에서 정상적으로 발현되지 않는 인공 DNA 서열일 수 있다. 예시적인 인공 DNA 서열은 융합 단백질을 인코딩하는 개방 판독 프레임을 형성하기 위해 함께 결합되는 유전자의 일부를 함유하는 것이다. 함께 결합되는 DNA의 부분은 단일 유기체 또는 하나 이상의 유기체로부터 유래될 수 있다.

[1974] PCR은 형질감염에 사용되는 mRNA의 시험관내 전사를 위한 주형을 생성하는데 사용될 수 있다. PCR을 수행하기 위한 방법은 당업계에 익히 공지되어 있다. PCR에 사용하기 위한 프라이머는 PCR을 위한 주형으로 사용되는 DNA의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 갖도록 설계된다. 본원에 사용된 바와 같이, "실질적으로 상보적"은 프라이머 서열 내의 염기의 대다수 또는 전부가 상보적이거나, 하나 이상의 염기가 비상보적이거나, 또는 불일치되는 뉴클레오타이드의 서열을 지칭한다. 실질적으로 상보적 서열은 PCR에 사용되는 어닐링 조건하에서 의도된 DNA 표적과 어닐링하거나 혼성화할 수 있다. 프라이머는 DNA 주형의 임의의 부분에 실질적으로 상보적이라도 설계될 수 있다. 예를 들어, 프라이머는 5' 및 3' UTR을 포함할 수 있는 세포(개방 판독 프레임)에서 일반적으로 전사되는 유전자의 부분을 증폭하도록 설계될 수 있다. 프라이머는 또한 관심 있는 특정 도메인을 인코딩하는 유전자의 일부를 증폭하도록 설계될 수 있다. 일부 구현예에서, 프라이머는 5' 및 3' UTR의 전부 또는 일부를 포함하는 인간 cDNA의 코딩 영역을 증폭하도록 설계된다. PCR에 유용한 프라이머는 당업계에 익히 공지되어

있는 합성 방법에 의해 생성된다.

- [1975] "정방향 프라이머"는 증폭될 DNA 서열의 업스트림에 있는 DNA 주형 상의 뉴클레오타이드에 실질적으로 상보적인 뉴클레오타이드의 영역을 함유하는 프라이머이다. "업스트림"은 코딩 가닥에 대해 증폭될 DNA 서열에 대한 위치 5'를 지칭하기 위해 본원에서 사용된다. "역방향 프라이머"는 증폭될 DNA 서열의 다운스트림에 있는 이중 가닥 DNA 주형에 실질적으로 상보적인 뉴클레오타이드의 영역을 함유하는 프라이머이다. "다운스트림"은 코딩 가닥에 대해 증폭될 DNA 서열에 대한 위치 3'를 지칭하기 위해 본원에서 사용된다.
- [1976] PCR에 유용한 임의의 DNA 폴리머라제가 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. 시약 및 폴리머라제는 다수의 공급원으로부터 상업적으로 입수가능하다.
- [1977] 안정성 및/또는 번역 효율을 촉진하는 능력을 갖는 화학적 구조물이 또한 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, RNA는 5' 및 3' UTR을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 0 내지 3000개 뉴클레오타이드 길이 사이이다. 코딩 영역에 첨가되는 5' 및 3' UTR 서열의 길이는 UTR의 상이한 영역에 어닐링하는 PCR용 프라이머를 설계하는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는 상이한 방법에 의해 변경될 수 있다. 이러한 접근법을 사용하여, 당업자는 전사된 RNA의 형질감염 후 최적의 번역 효율을 달성하기 위해 요구되는 5' 및 3' UTR 길이를 변경할 수 있다. 5' 및 3' UTR은 관심 있는 유전자에 대해 천연 내인성 5' 및 3' UTR일 수 있다. 대안적으로, 관심 있는 유전자에 내인성이 아닌 UTR 서열은 UTR 서열을 정방향 및 역방향 프라이머 내로 혼입하거나 주형의 임의의 다른 변형에 의해 첨가될 수 있다. 관심 있는 유전자에 내인성이 아닌 UTR 서열의 사용은 RNA의 안정성 및/또는 번역 효율을 변형시키는데 유용할 수 있다. 예를 들어, 3' UTR 서열 중 AU-풍부 요소가 mRNA의 안정성을 감소시킬 수 있는 것으로 공지되어 있다. 따라서, 3' UTR은 당업계에 익히 공지되어 있는 UTR의 특성에 기초하여 전사된 RNA의 안정성을 증가시키기 위해 선택되거나 설계될 수 있다.
- [1978] 일부 구현예에서, 5' UTR은 내인성 유전자의 코작 서열을 함유할 수 있다. 대안적으로, 관심 있는 유전자에 내인성이 아닌 5' UTR이 상기 기재된 바와 같이 PCR에 의해 첨가되는 경우, 컨센서스 코작 서열은 5' UTR 서열을 첨가함으로써 재설계될 수 있다. 코작 서열은 일부 RNA 전사체의 번역 효율을 증가시킬 수 있지만, 모든 RNA가 효율적인 번역을 가능하게 하기 위해 필요한 것으로 보이지는 않는다. 많은 mRNA에 대한 코작 서열에 대한 요건은 당업계에 공지되어 있다. 다른 구현예에서, 5' UTR은 RNA 게놈이 세포에서 안정한 RNA 바이러스로부터 유래될 수 있다. 다른 구현예에서, 다양한 뉴클레오타이드 유사체가 mRNA의 엑소뉴클레아제 분해를 방해하기 위해 3' 또는 5' UTR에 사용될 수 있다.
- [1979] 유전자 클로닝을 필요로 하지 않고 DNA 주형으로부터 RNA의 합성을 가능하게 하기 위해, 전사의 프로모터는 전사될 서열의 DNA 주형 업스트림에 부착되어야 한다. RNA 폴리머라제에 대한 프로모터로서 기능하는 서열이 정방향 프라이머의 5' 말단에 첨가될 때, RNA 폴리머라제 프로모터는 전사될 개방 판독 프레임의 PCR 생성물 업스트림 내로 혼입된다. 일부 구현예에서, 프로모터는 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같이 T7 폴리머라제 프로모터이다. 다른 유용한 프로모터는 T3 및 SP6 RNA 폴리머라제 프로모터를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. T7, T3 및 SP6 프로모터에 대한 컨센서스 뉴클레오타이드 서열은 당업계에 공지되어 있다.
- [1980] 일부 구현예에서, mRNA는 세포에서 리보솜 결합, 번역의 개시 및 mRNA의 안정성을 결정하는 5' 말단 및 3' 폴리(A) 꼬리 상에 캡을 둘 다 갖는다. 원형 DNA 주형, 예를 들어, 플라스미드 DNA 상에서, RNA 폴리머라제는 진핵 세포에서의 발현에 적합하지 않은 긴 콘카테머 생성물을 생성한다. 3' UTR의 말단에서 선형화된 플라스미드 DNA의 전사는 전사 후 폴리아데닐화되더라도 진핵생물 형질감염에 효과적이지 않은 정상 크기의 mRNA를 초래한다.
- [1981] 선형 DNA 주형 상에서, 파지 T7 RNA 폴리머라제는 전사체의 3' 말단을 주형의 마지막 염기를 넘어 연장시킬 수 있다(참조: Schenborn and Mierendorf,
- [1982] Nuc Acids Res., **13**:6223-36 (1985); Nacheva and Berzal-Herranz, Eur. J. Biochem., **270**:1485-65 (2003)).
- [1983] 폴리A/T 스트레치를 DNA 주형으로 혼입하는 종래의 방법은 분자 클로닝이다. 그러나, 플라스미드 DNA에 혼입된 폴리A/T 서열은 플라스미드 불안정을 일으킬 수 있으며, 이는 박테리아 세포로부터 수득된 플라스미드 DNA 주형이 종종 결실 및 기타 수차로 고도로 오염되는 이유이다. 이는 복제 절차를 힘들고 시간 소모적일도록 할 뿐만 아니라 종종 신뢰할 수 없도록 한다. 그것은 클로닝 없이 폴리A/T 3' 스트레치로 DNA 주형의 작제를 가능하게 하는 방법이 매우 바람직한 이유이다.
- [1984] 전사 DNA 주형의 폴리A/T 세그먼트는 100T 꼬리(크기는 50-5000 T일 수 있음)와 같은 폴리T 꼬리를 함유하는 역방향 프라이머를 사용하여 PCR 동안 또는 DNA 결찰 또는 시험관내 재조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는 임

의의 다른 방법에 의해 PCR 후에 생성될 수 있다. 폴리(A) 꼬리는 또한 RNA에 대한 안정성을 제공하고, 그들의 분해를 감소시킨다. 일반적으로, 폴리(A) 꼬리의 길이는 전사된 RNA의 안정성과 양의 상관관계가 있다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 꼬리는 100 내지 5000개의 아데노신이다.

- [1985] RNA의 폴리(A) 꼬리는 폴리(A) 폴리머라제, 예를 들어, 이. 콜라이(E. coli) 폴리A 폴리머라제(E-PAP)의 사용과 함께 시험관내 전사 후 추가로 연장될 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리(A) 꼬리의 길이를 100개 뉴클레오티드에서 300 내지 400개 뉴클레오티드로 증가시키면 RNA의 번역 효율의 약 2배 증가를 초래한다. 추가로, 3' 말단에 상이한 화학적 그룹의 부착은 mRNA 안정성을 증가시킬 수 있다. 이러한 부착은 변형된/인공 뉴클레오티드, 앵타머 및 다른 화합물을 함유할 수 있다. 예를 들어, ATP 유사체는 폴리(A) 폴리머라제를 사용하여 폴리(A) 꼬리 내로 혼입될 수 있다. ATP 유사체는 RNA의 안정성을 추가로 증가시킬 수 있다.
- [1986] RNA 상의 5' 캡은 또한 RNA 분자에 안정성을 제공할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 RNA는 5' 캡을 포함한다. 5' 캡은 당업계에 공지되어 있고 본원에 기재된 기술을 사용하여 제공된다(참조: Cougot et al., Trends in Biochem. Sci. **29**:436-444 (2001); Stepinski et al., RNA **7**:1468-95 (2001); Elango, et al., Biochim. Biophys. Res. Commun. 330:958-966 (2005)).
- [1987] 본원에 개시된 방법에 의해 생산된 RNA는 또한 내부 리보솜 진입 부위(IRES) 서열을 함유할 수 있다. IRES 서열은 mRNA에 대한 cap-독립적 리보솜 결합을 개시하고 번역의 개시를 용이하게 하는 임의의 바이러스, 염색체 또는 인위적으로 설계된 서열일 수 있다. 세포 투과성 및 생존력을 촉진하는 인자, 예를 들어, 당, 펩티드, 지질, 단백질, 항산화제 및 계면활성제를 함유할 수 있는 세포 전기천공에 적합한 임의의 용질이 포함될 수 있다.
- [1988] RNA는 임의의 다수의 상이한 방법들, 예를 들어, 전기천공(예: Amaxa Nucleofector-II(Amaxa Biosystems, Cologne, Germany), ECM 830(BTX)(Harvard Instruments, Boston, Mass.), Gene Pulser II(BioRad, Denver, Colo.), 또는 Multiporator(Eppendorf, Hamburg Germany)), 리포펙션을 사용하는 양이온성 리포솜 매개된 형질 감염, 중합체 캡슐화, 펩티드 매개된 형질감염, 또는 생물학적 입자 전달 시스템, 예를 들어, "유전자 총"을 포함하지만 이에 제한되지 않는 상업적으로 이용 가능한 방법을 사용하여 표적 세포 내로 도입될 수 있다(예를 들어, Nishikawa et al. Hum Gene Ther. **12**(8):861-70 (2001) 참조).
- [1989] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 CAR 서열은 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터를 사용하여 본 발명의 면역 세포 내로 전달된다. CAR-발현 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터는 상이한 유형의 진행 세포뿐만 아니라 담체로서 형질도입된 세포 또는 캡슐화, 결합 또는 네이키드 벡터의 무세포 국소 또는 전신 전달을 사용하여 조직 및 전체 유기체 내로 전달될 수 있다. 사용된 방법은 안정한 발현이 요구되거나 충분한 임의의 목적을 위한 것일 수 있다.
- [1990] 본원에 사용된 용어 "렌티바이러스 벡터"는 특히 문헌(참조: Milone et al., Mol. Ther. **17**(8): 1453-1464 (2009))에 제공된 바와 같은 자가-불활성화 렌티바이러스 벡터를 포함하는 렌티바이러스 계통의 적어도 일부로부터 유래된 벡터를 지칭한다. 클리닉에서 사용될 수 있는 렌티바이러스 벡터의 다른 예는 옥스퍼드 바이오메디카(Oxford BioMedica)로부터의 LENTIVECTOR® 유전자 전달 기술, 렌티젠(Lentigen)으로부터의 LENTIMAX™ 벡터 시스템 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 렌티바이러스 벡터의 비임상 유형도 또한 이용 가능하며, 당업자에게 공지되어 있을 것이다.
- [1991] 일부 구현예에서, CAR 서열은 시험관내 전사된 mRNA를 사용하여 본 발명의 면역 세포 내로 전달된다. 시험관내 형질도입된 mRNA CAR는 상이한 유형의 진행 세포뿐만 아니라 담체로서 형질감염된 세포 또는 캡슐화, 결합 또는 네이키드 mRNA의 무세포 국소 또는 전신 전달을 사용하여 조직 및 전체 유기체 내로 전달될 수 있다. 사용된 방법은 일시적 발현이 요구되거나 충분한 임의의 목적을 위한 것일 수 있다.
- [1992] 일부 구현예에서, 목적하는 CAR은 트랜스포존을 통해 세포에서 발현될 수 있다.
- [1993] 일부 구현예에서, 본 발명의 면역 세포는, 예를 들어, T 세포이다. 본원에 기재된 바와 같은 T 세포(예: Treg, Teff, 기억 T 세포, NKT 또는 MAIT 세포)의 확장 및 유전자 변형 전에, 세포는 대상체로부터 획득된다. T 세포는 말초 혈액 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉막 삼출액, 비장 조직 및 종양을 포함하는 다수의 공급원으로부터 획득될 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 당업계에서 이용 가능한 임의의 수의 T 세포주가 사용될 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, T 세포는 당업자에게 공지된 임의의 수의 기술, 예를 들어, Ficoll™ 분리, 적혈구 용해 및 단핵구 고갈에 따른 PERCOLL™ 구배를 통한 원심분리, 역류 원심 용출, 백혈구 성분채집, 및 후속 세포 표면 마커-기반 자기 또는 유세포 계측 단리를 사용하여 대상체로부터 수집된 혈액의 단위로부터 획득될 수 있다. 일부 구현예에서, 개체의 순환 혈액으로부터의

세포는 성분채집에 의해 수득된다. 성분채집 생성물은 전형적으로 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포, 다른 유핵 백혈구, 적혈구 및 혈소판을 포함하는 림프구를 함유한다. 일부 구현예에서, 개체의 순환 혈액으로부터의 세포는 백혈구 성분채집에 의해 수득된다.

[1994] 일부 구현예에서, 백혈구 성분채집에 의해 수집된 세포는 혈장 분획을 제거하고 후속 처리 단계를 위해 세포를 적절한 완충제 또는 배지에 배치하기 위해 세척될 수 있다. 본 발명의 일부 구현예에서, 세포는 인산염 완충 식염수(PBS)로 세척된다. 일부 구현예에서, 세척 용액은 칼슘이 결여되고, 마그네슘이 결여될 수 있거나, 모든 2가 양이온이 아니더라도 많은 양이온이 결여될 수 있다. 세척 후, 세포는 임의의 다양한 생체적합성 완충제, 예를 들어, Ca^{2+} -무함유, Mg^{2+} -무함유 PBS, PlasmaLyte A, 또는 완충제 존재 또는 부재의 다른 식염수 용액 중에 재현탁될 수 있다. 대안적으로, 백혈구 성분채집 샘플의 바람직하지 않은 성분이 제거될 수 있고, 세포를 배양 배지에 직접 재현탁시킬 수 있다.

[1995] 또 다른 구현예에서, T 세포는 적혈구를 용해시키고 단핵구를 고갈시킴으로써, 예를 들어, PERCOLL™ 구배를 통한 원심분리 또는 역류 원심 용출에 의해 말초 혈액 림프구로부터 분리된다. T 세포의 특정 하위집단은 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 추가로 분리될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, T 세포는 목적하는 T 세포의 양성 선택을 위해 충분한 시간 동안 항-CD3/항-CD28(즉, 3x28)-접합된 비드, 예를 들어, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T와의 배양에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, 시간은 약 30분이다. 추가의 구현예에서, 시간은 30 분 내지 36시간 또는 그 이상의 범위 및 그 사이의 모든 정수 값이다. 추가의 구현예에서, 시간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6시간이다. 일부 구현예에서, 시간은 10 내지 24시간이다. 특정 구현예에서, 배양 시간은 24 시간이다. 더 긴 배양 시간은 다른 세포 유형과 비교하여 T 세포가 거의 없는 임의의 상황에서 T 세포를 분리 하는데 사용될 수 있다. 따라서, T 세포가 항-CD3/항-CD28 비드에 결합하도록 허용되는 시간을 단순히 단축 또는 연장시킴으로써 및/또는 T 세포에 대한 비드의 비율을 증가 또는 감소시킴으로써(본원에 추가로 기재된 바와 같음), T 세포의 하위집단은 배양 개시시 또는 공정 동안의 다른 시점을 위해 또는 이에 대해 우선적으로 선택 될 수 있다. 추가로, 비드 또는 다른 표면 상의 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체의 비율을 증가 또는 감소시킴으로써, T 세포의 하위집단은 배양 개시시 또는 다른 목적하는 시점을 위해 또는 이에 대해 우선적으로 선택될 수 있다. 당업자는 다수의 선택 라운드가 또한 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

[1996] 일부 구현예에서, 선택 절차를 수행하고 활성화 및 확장 과정에서 "선택되지 않은" 세포를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. "선택되지 않은" 세포는 또한 선택의 추가 라운드들을 거칠 수 있다. 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 농축은 음성으로 선택된 세포에 고유한 표면 마커에 지시된 항체의 조합으로 달성될 수 있다. 한 가지 방법은 음성으로 선택된 세포 상에 존재하는 세포 표면 마커에 지시된 모노클로날 항체의 각테일을 사용하는 음성 자기 면역 부착 또는 유세포 계측법을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택에 의해 CD4^+ 세포를 풍부하게 하기 위해, 모노클로날 항체 각테일은 전형적으로 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 특정 구현예에서, T 조절 세포는 항-CD25 접합된 비드 또는 다른 유사한 선택 방법에 의해 고갈된다.

[1997] 양성 또는 음성 선택에 의한 목적하는 세포 집단의 분리를 위해, 세포 및 표면(예: 비드와 같은 입자)의 농도는 다양할 수 있다. 특정 구현예에서, 비드 및 세포가 함께 혼합되는 용적을 유의하게 감소시키고(즉, 세포의 농도를 증가시키고), 세포 및 비드의 최대 접촉을 보장하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 20억 세포/mL의 농도가 사용된다. 일부 구현예에서, 10억 세포/mL의 농도가 사용된다. 추가의 구현예에서, 1억개 초과 세포/mL가 사용된다. 추가의 구현예에서, 1000만, 1500만, 2000만, 2500만, 3000만, 3500만, 4000만, 4500만 또는 5000만 세포/mL의 세포 농도가 사용된다. 일부 구현예에서, 7500만, 8000만, 8500만, 9000만, 9500만 또는 1억개 세포/mL의 세포 농도가 사용된다. 추가의 구현예에서, 12500만 또는 15000만 세포/mL의 농도가 사용될 수 있다. 고농도를 사용하면 세포 수율 증가, 세포 활성화 및 세포 확장을 초래할 수 있다. 또한, 높은 세포 농도의 사용은 CD28-음성 T 세포와 같은 관심 있는 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포, 또는 많은 중앙 세포가 존재하는 샘플(즉, 백혈병 혈액, 중앙 조직 등)로부터 보다 효율적으로 포획할 수 있게 한다. 이러한 세포 집단은 치료적 가치를 가질 수 있고, 수득하는 것이 바람직할 수 있다.

[1998] 자극을 위한 T 세포는 또한 세척 단계 후에 동결될 수 있다. 이론에 결부시키지 않고, 동결 및 후속적 해동 단계는 세포 집단 내의 과립구 및 어느 정도 단핵구를 제거함으로써 보다 균일한 생성물을 제공한다. 혈장 및 혈소판을 제거하는 세척 단계 후에, 세포는 동결 용액에 현탁될 수 있다. 많은 동결 용액 및 파라미터가 당업계에 공지되어 있고 이러한 맥락에서 유용할 것이지만, 한 가지 방법은 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민을 함유하는 PBS, 또는 10% 텍스트란 40 및 5% 텍스트로스, 20% 인간 혈청 알부민 및 7.5% DMSO, 또는 31.25%

Plasmalyte-A, 31.25% 텍스트로스 5%, 0.45% NaCl, 10% 텍스트란 40 및 5% 텍스트로스, 20% 인간 혈청 알부민, 및 7.5% DMSO를 함유하는 배양 배지, 또는, 예를 들어, 헤스판 및 PlasmaLyte A를 함유하는 다른 적합한 세포 동결 배지를 사용함을 포함하고, 이어서, 세포를 분당 1°의 속도로 -80℃로 동결시키고, 액체 질소 저장 탱크의 증기상에 저장한다. 제어된 동결의 다른 방법뿐만 아니라 -20℃ 또는 액체 질소에서 즉시 제어되지 않는 동결이 사용될 수 있다.

[1999] 특정 구현예에서, 동결보존된 세포는 본원에 기재된 바와 같이 해동 및 세척되고, 활성화 전에 실온에서 1시간 동안 휴지시킨다.

[2000] 또한, 본 발명의 맥락에서 본원에 기재된 바와 같이 확장된 세포가 필요할 수 있는 시점 이전의 기간에 대상체로부터의 혈액 샘플 또는 백혈구 성분채집 생성물의 수집이 고려된다. 이와 같이, 확장될 세포의 공급원은 필요한 임의의 시점에서 수집될 수 있고, 목적하는 세포, 예를 들어, T 세포는 본원에 기재된 것들과 같은 T 세포 요법으로부터 이익을 얻을 수 있는 임의의 수의 질환 또는 상태에 대한 T 세포 요법에 추후 사용하기 위해 단리 및 동결될 수 있다. 일부 구현예에서, 혈액 샘플 또는 백혈구 성분채집 생성물은 일반적으로 건강한 대상체로부터 취해진다. 특정 구현예에서, 혈액 샘플 또는 백혈구 성분채집 생성물은 질환이 발병할 위험이 있지만 아직 질환이 발병되지 않은 일반적으로 건강한 대상체로부터 취해지고, 관심 있는 세포는 추후 사용을 위해 단리되고 동결된다. 특정 구현예에서, T 세포는 확장되고, 동결되고, 나중에 사용될 수 있다.

[2001] 바람직한 CAR을 발현하는 T 세포의 유전적 변형 이전이든 이후이든, T 세포는 일반적으로, 예를 들어, 본원에 참고로 포함된 미국 특허 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 및 6,867,041; 및 미국 특허 공보 2006/0121005에 기재된 바와 같은 방법을 사용하여 활성화 및 확장될 수 있다.

[2002] 일반적으로, 본 발명의 T 세포(예: Treg, Teff, 기억 T 세포, NKT 또는 MAIT 세포)는 CD3/TCR 복합체 관련 신호를 자극하는 제제 및 세포의 표면 상의 공동자극 분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 확장된다. 특히, T 세포(예: Treg, Teff, 기억 T 세포, NKT 또는 MAIT 세포)는 본원에 기재된 바와 같이, 예를 들어, 표면 상에 고정화된 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 항-CD2 항체와의 접촉에 의해, 또는 칼슘 이오노포어와 결합된 단백질 키나제 C 활성화제(예: 브리오스타틴)와의 접촉에 의해 자극될 수 있다. T 세포의 표면 상의 부속 분자의 공동 자극을 위해, 부속 분자에 결합하는 리간드가 사용된다. 예를 들어, T 세포의 집단은 T 세포의 증식을 자극하기에 적합한 조건하에서, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉될 수 있다. CD4⁺ T 세포의 증식을 자극하기 위해, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체가 사용될 수 있다. 항-CD28 항체의 예는 9.3, B-T3, XR-CD28(디아클론, 베산콘, 프랑스)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 당업계에 통상적으로 공지된 다른 확장 방법이 사용될 수 있다(참조: Berg et al., Transplant Proc. **30**(8):3975-3977 (1998); Haanen et al., J. Exp. Med. **190**(9):1319-1328 (1999); Garland et al., J. Immunol Meth. **227**(1-2):53-63 (1999)).

[2003] 특정 구현예에서, 본 발명의 T 세포(예: Treg, Teff, 기억 T, NKT 또는 MAIT 세포)에 대한 1차 자극 신호 및 공동자극 신호는 상이한 프로토콜에 의해 제공될 수 있다. 예를 들어, 각각의 신호를 제공하는 제제는 용액 내에 있을 수 있고/있거나 표면에 결합될 수 있다. 표면에 결합될 때, 제제는 동일한 표면(즉, "시스" 형성으로) 또는 별개의 표면(즉, "트랜스" 형성으로) 결합될 수 있다. 대안적으로, 하나의 제제는 용액 중의 표면 및 다른 제제에 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, 공동자극 신호를 제공하는 제제는 세포 표면에 결합되고, 1차 활성화 신호를 제공하는 제제는 용액 내에 있거나 표면에 결합된다. 특정 구현예에서, 두 제제 모두 용액 내에 있을 수 있다. 일부 구현예에서, 제제는 가용성 형태로 존재할 수 있고, 이어서 표면, 예를 들어, Fc 수용체 또는 제제에 결합할 항체 또는 다른 결합제를 발현하는 세포에 가교결합할 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명에서 T 세포를 활성화 및 확장하는데 사용하기 위해 고려되는 인공 항원 제시 세포(aAPC)를 위해, 예를 들어, 본원에 참조로 포함된 미국 특허 공개 2004/0101519 및 2006/0034810을 참조한다.

[2004] 일부 구현예에서, 두 제제는 동일한 비드 상, 즉 "시스" 또는 별도의 비드, 즉 "트랜스"로 비드 상에 고정화된다. 예로서, 1차 활성화 신호를 제공하는 제제는 항-CD3 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, 공동자극 신호를 제공하는 제제는 항-CD28 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고; 두 제제는 동등한 분자량으로 동일한 비드에 공동-고정화된다. 일부 구현예에서, CD4⁺ T 세포 확장 및 T 세포 성장을 위해 비드에 결합된 각 항체의 1:1 비율이 사용된다. 본 발명의 특정 측면에서, 비드에 결합된 항-CD3:항-CD28 항체의 비율은 1:1의 비율을 사용하여 관찰된 확장과 비교하여 T 세포 확장의 증가가 관찰되도록 사용된다. 일부 구현예에서, 1:1의 비율을 사용하여 관찰된 확장과 비교하여 약 1 내지 약 3배의 증가가 관찰된다. 일부 구현예에서, 비드에 결합된 항-CD3:항-

CD28 항체의 비율은 100:1 내지 1:100 범위 및 그 사이의 모든 정수 값이다. 일부 구현예에서, 항-CD3 항체보다 더 많은 항-CD28 항체가 입자에 결합되고, 즉, CD3:CD28의 비율은 1 미만이다. 본 발명의 특정 구현예에서, 비드에 결합된 항-CD28 항체 대 항-CD3 항체의 비율은 2:1 초과이다. 하나의 특정 구현예에서, 비드에 결합된 항체의 1:100 CD3:CD28 비율이 사용된다. 일부 구현예에서, 비드에 결합된 항체의 1:75 CD3:CD28 비율이 사용된다. 추가의 구현예에서, 비드에 결합된 항체의 1:50 CD3:CD28 비율이 사용된다. 일부 구현예에서, 비드에 결합된 항체의 1:30 CD3:CD28 비율이 사용된다. 특정 구현예에서, 비드에 결합된 항체의 1:10 CD3:CD28 비율이 사용된다. 일부 구현예에서, 비드에 결합된 항체의 1:3 CD3:CD28 비율이 사용된다. 일부 구현예에서, 비드에 결합된 항체의 3:1 CD3:CD28 비율이 사용된다.

[2005] 입자 대 세포의 비율 1:500 내지 500:1 및 그 사이의 임의의 정수 값은 T 세포 또는 다른 표적 세포를 자극하는데 사용될 수 있다. 당업자가 쉽게 이해할 수 있는 바와 같이, 입자 대 세포의 비율은 표적 세포에 대한 입자 크기에 의존할 수 있다. 예를 들어, 작은 크기의 비드는 단지 몇 개의 세포에만 결합할 수 있는 반면, 더 큰 비드는 많은 세포와 결합할 수 있다. 특정 구현예에서, T 세포는 1:100 내지 100:1 범위의 세포 대 입자의 비율 및 그 사이의 임의의 정수 값으로 자극될 수 있다. 특정 구현예에서, 비율은 1:9 내지 9:1 및 그 사이의 임의의 정수 값을 포함한다. T 세포 자극을 초래하는 항-CD3- 및 항-CD28-결합 입자 대 T 세포의 비율은 상기 언급된 바와 같이 변할 수 있지만; 값의 특정 구현예는 1:100, 1:50, 1:40, 1:30, 1:20, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1 및 15:1을 포함하며, 하나의 특정 비율은 T 세포 당 적어도 1:1 입자이다. 일부 구현예에서, 1:1 이하의 입자 대 세포의 비율이 사용된다. 특정 구현예에서, 입자:세포 비율은 1:5이다. 추가의 구현예에서, 입자 대 세포의 비율은 자극 일에 따라 변할 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 입자 대 세포의 비율은 1일째에 1:1 내지 10:1이고, 추가의 입자는 그 후 최대 10일 동안 매일 또는 격일로 세포에 1:1 내지 1:10의 최종 비율로(첨가 당일의 세포 계수에 기초함) 첨가된다. 하나의 특정 구현예에서, 입자 대 세포의 비율은 자극 1일째에 1:1이고, 자극 3일째 및 5일째에 1:5로 조정된다. 일부 구현예에서, 입자는 매일 또는 격일 기준으로 1일째에 1:1의 최종 비율로, 자극 3일째 및 5일째에 1:5의 최종 비율로 첨가된다. 일부 구현예에서, 입자 대 세포의 비율은 자극 1일째 2:1이고, 자극 3일째 및 5일째에 1:10으로 조정된다. 일부 구현예에서, 입자는 자극 1일째에 1:1, 자극 3일째 및 5일째에 1:10의 최종 비로 매일 또는 격일 기준으로 첨가된다. 당업자는 다양한 다른 비율이 본 발명에 사용하기에 적합할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 특히, 비율은 입자 크기 및 세포 크기 및 유형에 따라 달라질 것이다.

[2006] 본 발명의 추가의 구현예에서, 면역 세포는 제제-코팅된 비드와 결합되고, 비드 및 세포는 후속적으로 분리되고, 이어서 세포는 배양된다. 대안적인 구현예에서, 배양 전에, 제제-코팅된 비드 및 세포는 분리되지 않지만 함께 배양된다. 일부 구현예에서, 비드 및 세포는 먼저 자기력과 같은 힘의 인가에 의해 농축되어 세포 표면 마커의 증가된 결실을 초래하고, 이로써 세포 자극을 유도한다.

[2007] 예로서, 세포 표면 단백질은 항-CD3 및 항-CD28 항체가 부착된 상자성 비드 (3×28 비드)가 본 발명의 면역 세포와 접촉하도록 허용함으로써 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포(예: 10^4 내지 10^9 T 세포) 및 비드(예: 1:1 비율의 DYNABEADS M-450 CD3/CD28 T 상자성 비드)는 완충제, 예를 들어, PBS(예: 칼슘 및 마그네슘과 같은 2가 양이온 부재)에 결합된다. 다시, 당업자는 상황에 따라 임의의 세포 농도가 사용될 수 있다는 것을 쉽게 이해할 수 있다. 예를 들어, 표적 세포는 샘플에서 매우 드물고, 샘플의 0.01%만을 포함할 수 있거나, 전체 샘플(즉, 100%)은 관심 있는 표적 세포를 포함할 수 있다. 따라서, 임의의 세포 수는 본 발명의 맥락 내에 있다. 특정 구현예에서, 입자와 세포가 함께 혼합되는 용적을 유의하게 감소시키고(즉, 세포의 농도를 증가시키고), 세포와 입자의 최대 접촉을 보장하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 하나의 구현예에서, 약 20억 세포/mL의 농도가 사용된다. 또 다른 구현예에서, 1억 개 초과 세포/mL가 사용된다. 추가의 구현예에서, 1000만, 1500만, 2000만, 2500만, 3000만, 3500만, 4000만, 4500만 또는 5000만 세포/mL의 세포 농도가 사용된다. 또 다른 구현예에서, 7500만, 8000만, 8500만, 9000만, 9500만 또는 1억 개 세포/mL의 세포 농도가 사용된다. 추가의 구현예에서, 12500만 또는 15000만 세포/mL의 농도가 사용될 수 있다. 고농도를 사용하면 증가된 세포 수율, 세포 활성화 및 세포 확장을 초래할 수 있다. 또한, 높은 세포 농도의 사용은 CD28-음성 T 세포와 같은 관심 있는 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포의 보다 효율적인 포획을 가능하게 한다. 이러한 세포 집단은 치료적 가치를 가질 수 있고, 특정 구현예에서 수득하는 것이 바람직할 수 있다.

[2008] 본 발명의 일부 구현예에서, 혼합물은 수 시간(예: 약 3시간) 내지 약 14일 또는 그 사이의 임의의 시간별 정수 값 동안 배양될 수 있다. 일부 구현예에서, 혼합물은 21일 동안 배양될 수 있다. 본 발명의 일부 구현예에서, 비드 및 T 세포는 약 8일 동안 함께 배양된다. 일부 구현예에서, 비드 및 T 세포는 2-3일 동안 함께 배양된다. 자극의 몇몇 사이클은 또한 T 세포의 배양 시간이 60일 이상일 수 있도록 목적시킬 수 있다. T 세포 배양에 적

합한 조건은 혈청(예: 태아 소 또는 인간 혈청), 인터류킨-2(IL-2), 인슐린, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β , 및 TNF- α 를 포함하는 증식 및 생존에 필요한 인자를 함유할 수 있는 적절한 배지(예: 최소 필수 배지 또는 RPMI 배지 1640 또는, X-vivo 15, (론자)) 또는 당업자에게 공지된 세포의 성장을 위한 임의의 다른 첨가제를 포함한다. 세포의 성장을 위한 다른 첨가제는 계면활성제, 플라스마네이트, 및 환원제, 예를 들어, N-아세틸-시스테인 및 2-머캅토에탄올을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 배지는 RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, a-MEM, F-12, X-Vivo 15, 및 X-Vivo 20, 옵티마이저를 포함할 수 있고, 아미노산, 나트륨 피루베이트 및 비타민이 첨가되고, 무혈청이거나 적절한 양의 혈청(또는 혈장) 또는 정의된 호르몬 세트, 및/또는 T 세포의 성장 및 확장에 충분한 양의 사이토카인(들)의 양이 보충된다. 항생제, 예를 들어, 페니실린 및 스트렙토마이신은 실험 배양물에만 포함되며, 대상체에 주입되는 세포의 배양물에는 포함되지 않는다. 표적 세포는 성장을 지지하는데 필요한 조건, 예를 들어, 적절한 온도(예: 37°C) 및 대기(예: 공기 + 5% CO₂)하에서 유지된다.

- [2009] 다양한 자극 시간에 노출된 T 세포는 상이한 특성을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 전형적인 혈액 또는 성분채집된 말초 혈액 단핵 세포 생성물은 세포독성 또는 억제 T 세포 집단(Tc, CD8⁺)보다 큰 헬퍼 T 세포 집단(Th, CD4⁺)을 갖는다. CD3 및 CD28 수용체를 자극함으로써 T 세포의 생체외 확장은 약 8-9일 이전에 주로 Th 세포로 구성되는 T 세포의 집단을 생성하는 반면, 약 8-9일 후, T 세포의 집단은 점점 더 큰 Tc 세포의 집단을 포함한다. 치료 목적에 따라, 일부 구현예에서, 대상체에게 Th 세포를 우세하게 포함하는 T 세포 집단을 주입하는 것이 유리할 수 있다. 일부 구현예에서, Tc 세포의 항원-특이적 서브세트가 단리되었다면, 이 서브세트를 더 큰 정도로 확장시키는 것이 유익할 수 있다.
- [2010] 또한, CD4 및 CD8 마커 이외에, 다른 표현형 마커는 유의하게 다양하지만, 대부분 세포 확장 과정 동안 재현 가능하게 변한다. 이러한 재현성은 특정 목적을 위해 활성화된 T 세포 생성물을 맞춤화하는 능력을 가능하게 한다.
- [2011] 본 발명의 일부 구현예에서, T 세포는, 예를 들어, PCT 특허 공보 WO 2007/110785(본원에 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 조절 T 세포를 수득하기 위해 라파마이신의 존재하에 배양될 수 있다. 조절 T 세포를 생성하는 또 다른 방법은 미국 특허 공보 2016/024470(본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있으며, 여기서 T 세포는 T 세포 수용체(TCR)/CD3 활성화제, 예를 들어, TCR/CD3 항체, TCR 공동자극제 활성화제, 예를 들어, CD28, CD137 (4-1 BB), GITR, B7-1/2, CD5, ICOS, OX40, CD40 또는 CD137 항체, 및 라파마이신과 함께 배양된다.
- [2012] 본 발명의 일부 구현예에서, 본원에 기재된 CAR의 발현에 의해 유전적으로 변형된 T 세포는 또한 적어도 하나의 세포내 인자, 예를 들어, ROR- γ , FoxP3, Foxo1, T-bet, 또는 Gata3, c-Maf, 또는 AhR의 발현에 의해 유전적으로 변형되었을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 유전적으로 변형된 면역 세포는 FoxP3를 발현한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 유전적으로 변형된 면역 세포는 Foxo1를 발현한다.
- [2013] 하나의 구현예에서, 본 발명의 유전적으로 변형된 면역 세포는 동종이계 Treg, Teff, 기억 T 세포, 또는 NKT 또는 MAIT 세포일 수 있다. 예를 들어, 동종이계 T 세포는 기능적 인간 백혈구 항원(HLA), 예를 들어, HLA 클래스 I 및/또는 HLA 클래스 II의 발현이 결여된 T 세포일 수 있다.
- [2014] 하나의 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 T 세포는 그들이 그의 표면 상에서 기능적 HLA를 발현하지 않도록 조작될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 T 세포는 세포 표면 발현 HLA, 예를 들어, HLA 클래스 I 및/또는 HLA 클래스 II 또는 비고전적 HLA 분자가 하향조절되도록 조작될 수 있다.
- [2015] 기능적 TCR 및/또는 HLA의 발현이 결여된 변형된 면역 세포는 TCR 및/또는 HLA의 하나 이상의 서브유닛의 녹아웃 또는 녹다운을 포함하는 임의의 적합한 수단에 의해 수득될 수 있다. 예를 들어, T 세포는 siRNA, shRNA, 클러스터링된 규칙적으로 배치된 짧은 회문 반복체(CRISPR) 전사-활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), 아연 핑거 엔도뉴클레아제(ZFN), 메가뉴클레아제(mn, 호밍 엔도뉴클레아제라고도 함) 또는 megaTAL(TAL 이펙터와 mn 절단 도메인을 결합)을 사용하는 TCR 및/또는 HLA의 녹다운을 포함할 수 있다.
- [2016] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 CAR을 인코딩하는 핵산은 면역 세포의 게놈 내의 특정 유전자좌, 예를 들어, 결실될 유전자의 유전자좌에 삽입된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 CAR을 인코딩하는 핵산은 TCR 및/또는 HLA 유전자좌 내에 삽입되고, 이에 따라 TCR 및/또는 HLA 발현의 억제를 초래한다.
- [2017] 일부 구현예에서, TCR 및/또는 HLA 발현은 T 세포에서 TCR 및/또는 HLA를 인코딩하는 핵산을 표적으로 하는 siRNA 또는 shRNA를 사용하여 억제될 수 있다. T 세포에서 siRNA 및 shRNA의 발현은 임의의 통상적인 발현 시

시스템, 예를 들어, 렌티바이러스 발현 시스템을 사용하여 달성될 수 있다. HLA 클래스 I 및/또는 HLA 클래스 II 유전자의 발현을 하향조절하는 예시적인 siRNA 및 shRNA가, 예를 들어, 미국 특허 공보 2007/0036773에 기재되어 있다. TCR의 성분들의 발현을 하향조절하는 예시적인 shRNA가, 예를 들어, 미국 특허 공보 2012/0321667에 기재되어 있다.

[2018] 본원에 사용된 "CRISPR" 또는 "TCR 및/또는 HLA에 대한 CRISPR" 또는 "TCR 및/또는 HLA를 억제하기 위한 CRISPR"은 클러스터링된 규칙적으로 배치된 짧은 회문 반복체의 세트, 또는 이러한 반복체의 세트를 포함하는 시스템을 지칭한다. 본원에 사용된 "Cas"는 CRISPR-관련 단백질을 지칭한다. "CRISPR/Cas" 시스템은 TCR 및/또는 HLA 유전자를 침묵시키거나 돌연변이시키는데 사용될 수 있는 CRISPR 및 Cas로부터 유래된 시스템을 지칭한다.

[2019] 천연 CRISPR/Cas 시스템은 서열분석된 유박테리아 게놈의 약 40%와 서열분석된 고세균의 90%에서 발견된다. 예를 들어, 문헌(Grissa et al. (BMC Bioinformatics 8:172 (2007)))을 참조한다. 이 시스템은 플라스미드 및 파지와 같은 외래 유전 요소에 대한 내성을 부여하고 후천성 면역의 형태를 제공하는 원핵 면역계의 한 유형이다. 예를 들어, 문헌(Barrangou et al., Science **315**:1709-1712 (2007); Marragani et al., Science **322**:1843-1845 (2008))을 참조한다. CRISPR/Cas 시스템은 마우스 또는 영장류와 같은 진핵생물에서 유전자 편집(특정 유전자의 침묵, 강화 또는 변경)에 사용하기 위해 변형되었다. 예를 들어, 문헌(Wiedenheft et al., Nature **482**: 331-8 (2012))을 참조한다. 이는 구체적으로 설계된 CRISPR 및 하나 이상의 적절한 Cas-인코딩 서열을 함유하는 플라스미드를 진핵 세포 내로 도입함으로써 달성된다. 때때로 CRISPR 유전자좌라고도 불리는 CRISPR 서열은 교호성 반복체 및 스페이서를 포함한다. 천연 CRISPR에서, 스페이서는 일반적으로 플라스미드 또는 파지 서열과 같은 박테리아에 대한 외래 서열을 포함하고; TCR 및/또는 HLA CRISPR/Cas 시스템에서, 스페이서는 TCR 및/또는 HLA 유전자 서열로부터 유래된다. CRISPR 유전자좌로부터의 RNA는 구성적으로 발현되고 Cas 단백질에 의해 작은 RNA로 처리된다. 이들은 반복 서열에 의해 인접된 스페이서를 포함한다. RNA는 다른 Cas 단백질이 RNA 또는 DNA 수준에서 외인성 유전 요소를 침묵하도록 안내한다. 예를 들어, 문헌(Horvath et al., Science **327**:167-170 (2010); Makarova et al., Biology Direct **1**:7 (2006))을 참조한다. 따라서, 스페이서는 siRNA와 유사하게 RNA 분자의 주형으로 작용한다. 예를 들어, 문헌(Pennisi, Science **341**:833-836 (2013))을 참조한다. 따라서, CRISPR/Cas 시스템은 TCR 및/또는 HLA 유전자를 편집(염기쌍을 추가 또는 삭제)하거나 TCR 및/또는 HLA의 발현을 감소시키는 조기 정지를 도입하는데 사용될 수 있다. CRISPR/Cas 시스템은 대안적으로 또는 추가로 RNA 간섭과 같이 사용될 수 있고, TCR 및/또는 HLA 유전자를 가역적인 방식으로 차단한다. 포유류 세포에서, 예를 들어, RNA는 Cas 단백질을 TCR 및/또는 HLA 프로모터로 안내하여 RNA 폴리머라제를 억제적으로 차단할 수 있다.

[2020] TCR 및/또는 HLA를 억제하는 인공 CRISPR/Cas 시스템은 당업계에 공지된 기술, 예를 들어, 문헌(참조: 미국 특허 공보 2014/0068797, 및 Cong, Science **339**:819-823 (2013))에 기재된 것을 사용하여 생성될 수 있다. 당업계에 공지되어 있는 다른 인공 CRISPR/Cas 시스템은 또한 TCR 및/또는 HLA, 예를 들어, 문헌(참조: Tsai, Nature Biotechnol. **32**:6569-576 (2014) 및 미국 특허 8,871,445; 8,865,406; 8,795,965; 8,771,945; 및 8,697,359)에 기재된 것들을 억제하기 위해 생성될 수 있다.

[2021] "TALEN" 또는 "TCR 및/또는 HLA에 대한 TALEN" 또는 "TCR 및/또는 HLA를 억제하는 TALEN"은 TCR 및/또는 HLA 유전자를 편집하는데 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제인 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제를 지칭한다. TALEN은 TAL 이펙터 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합시킴으로써 인위적으로 생산된다. 전사 활성화제-유사 이펙터(TALE)는 TCR 및/또는 HLA 유전자의 일부를 포함하는 임의의 목적하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다. 조작된 TALE를 DNA 절단 도메인과 결합함으로써, TCR 및/또는 HLA 서열을 포함하는 임의의 목적하는 DNA 서열에 특이적인 제한 효소가 생성될 수 있다. 그런 다음, 이들은 세포 내로 도입될 수 있으며, 여기서 그들은 게놈 편집에 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌(Boch, Nature Biotech. **29**:135-6 (2011); Boch et al., Science **326**:1509-12 (2009); and Moscou et al., Science **326**:3501 (2009))을 참조한다.

[2022] TALE는 크산토모나스(Xanthomonas) 박테리아에 의해 분비되는 단백질이다. DNA 결합 도메인은 12번째 및 13번째 아미노산을 제외하고 고도로 보존되는 반복된 33-34개의 아미노산 서열을 함유한다. 이러한 두 위치는 매우 가변적이며, 특정 뉴클레오티드 인식과 강한 상관관계를 나타낸다. 따라서, 그들은 목적하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다. TALEN을 생산하기 위해, TALE 단백질은 야생형 또는 돌연변이된 FokI 엔도뉴클레아제인 뉴클레아제(N)에 융합된다. FokI에 대한 몇 가지 돌연변이는 TALEN에서의 사용을 위해 이루어졌고; 이들은, 예를 들어, 절단 특이성 또는 활성을 개선시킨다. 예를 들어, 문헌(Cermak et al., Nucl. Acids Res. **39**:e82 (2011); Miller et al., Nature Biotech. **29**:143-8 (2011); Hockemeyer et al., Nature Biotech. **29**:731-734

(2011); Wood et al., Science **333**:307 (2011); Doyon et al., Nature Methods **8**:74-79 (2010); Szczeppek et al., Nature Biotech. **25**:786-793 (2007); and Guo et al., J. Mol. Biol. **200**:96 (2010))을 참조한다. FokI 도메인은 이량체로서 기능하며, 적절한 배향 및 간격을 갖는 표적 게놈 내의 부위에 대해 독특한 DNA 결합 도메인을 갖는 두 개의 작제물을 필요로 한다. TALE DNA 결합 도메인과 FokI 절단 도메인 사이의 아미노산 잔기의 수와 두 개의 별개의 TALEN 결합 부위 사이의 염기의 수는 모두 높은 수준의 활성을 달성하기 위한 중요한 파라미터인 것으로 보인다(참조: Miller et al., Nature Biotech. **29**:143-8 (2011)). TCR 및/또는 HLA TALEN은 이중 가닥 파단(DSB)을 생성하기 위해 세포 내부에 사용될 수 있다. 복구 메커니즘이 비상동성 말단 결합을 통해 파단을 부적절하게 복구하는 경우 파단 부위에 돌연변이가 도입될 수 있다. 예를 들어, 부적절한 복구는 프레임 시프트 돌연변이를 도입할 수 있다. 대안적으로, 외래 DNA는 TALEN과 함께 세포 내로 도입될 수 있고; 외래 DNA의 서열 및 염색체 서열에 따라, 이 과정은 TCR 및/또는 HLA 유전자에서 결합을 교정하거나 이러한 결합을 wt HLA 유전자에 도입하여 TCR 및/또는 HLA의 발현을 감소시키는데 사용될 수 있다. TCR 및/또는 HLA에서의 서열에 특이적인 TALEN은 모듈형 성분을 사용하는 다양한 방식을 포함하여 당업계에서 공지된 임의의 방법을 사용하여 작제될 수 있다(참조: Zhang et al., Nature Biotech. **29**:149-53 (2011); Geibler et al., PLoS ONE **6**:e19509 (2011)).

[2023] "ZFN" 또는 "아연 핑거 뉴클레아제" 또는 "TCR 및/또는 HLA에 대한 ZFN" 또는 "TCR 및/또는 HLA를 억제하는 ZFN"은 TCR 및/또는 HLA 유전자를 편집하는데 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제인 아연 핑거 뉴클레아제를 지칭한다. TALEN과 마찬가지로, ZFN은 DNA 결합 도메인에 융합된 FokI 뉴클레아제 도메인 (또는 이의 유도체)을 포함한다. ZFN의 경우에, DNA-결합 도메인은 하나 이상의 아연 핑거를 포함한다. 예를 들어, 문헌(Carroll et al., Genetics Society of America **188**:773-782 (2011); 및 Kim et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **93**:1156-1160 (1996))을 참조한다. 아연 핑거는 하나 이상의 아연 이온에 의해 안정화된 작은 단백질 구조 모티프이다. 아연 핑거는, 예를 들어, Cys₂His₂를 포함할 수 있고, 대략 3 bp 서열을 인식할 수 있다. 공지된 특이성의 다양한 아연 핑거는 약 6, 9, 12, 15 또는 18 bp 서열을 인식하는 다중 핑거 폴리펩티드를 생산하기 위해 조합될 수 있다. 파지 디스플레이, 효모 단일-하이브리드 시스템, 박테리아 1-하이브리드 및 2-하이브리드 시스템, 및 포유류 세포를 포함하는 특이적 서열을 인식하는 아연 핑거(및 이들의 조합)를 생성하기 위해 다양한 선택 및 모듈형 조립 기술이 이용 가능하다.

[2024] TALEN과 마찬가지로, ZFN은 DNA를 절단하기 위해 이량체화되어야 한다. 따라서, 한 쌍의 ZFN이 비-회문 DNA 부위를 표적으로 하기 위해 요구된다. 두 개의 개별 ZFN은 DNA의 반대 가닥을 적절하게 이격된 그들의 뉴클레아제와 결합시켜야 한다(참조: Bitinaite et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **95**:10570-5 (1998)). 또한, TALEN과 마찬가지로, ZFN은 DNA에 이중 가닥 파단을 생성할 수 있으며, 이는 부적절하게 복구될 경우 프레임 시프트 돌연변이를 생성하여 세포에서 TCR 및/또는 HLA의 발현 및 양을 감소시킬 수 있다. ZFN은 또한 TCR 및/또는 HLA 유전자를 돌연변이시키기 위해 상동성 재조합과 함께 사용될 수 있다. TCR 및/또는 HLA 내의 서열에 특이적인 ZFN은 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 작제될 수 있다. 예를 들어, 문헌(Provasti, Nature Med. **18**:807-815 (2011); Torikai, Blood **122**:1341-1349 (2013); Cathomen et al., Mol. Ther. **16**:1200-7 (2008); Quo et al., J. Mol. Biol. **400**:96 (2010); 및 U.S. 특허 공보 2011/0158957 및 2012/0060230)을 참조한다.

[2025] "메가뉴클레아제" 또는 "TCR 및/또는 HLA에 대한 메가뉴클레아제" 또는 "TCR 및/또는 HLA를 억제하는 메가뉴클레아제"는 TCR 및/또는 HLA 유전자를 편집하는데 사용될 수 있는 큰(>14개 염기쌍) 인식 부위를 갖는 단량체성 엔도뉴클레아제를 지칭한다. 메가뉴클레아제(mn)는 박테리아 호밍 엔도뉴클레아제로부터 유래되고 독특한 표적 부위를 위해 조작된 선천적 뉴클레아제 활성을 갖는 단량체성 단백질이다. 호밍 엔도뉴클레아제는 그들의 숙주 게놈의 개별 유전자좌에서 이중 가닥 파단을 생성할 수 있고 이에 의해 부위 특이적 유전자 전환 사건을 유도할 수 있는 DNA 절단 효소이다(참조: Stoddard, Structure **19**(1):7-15 (2011)). 그들의 작은 크기에도 불구하고, 호밍 엔도뉴클레아제는 긴 DNA 서열(전형적으로 20 내지 30개의 염기쌍)을 인식한다. 호밍 엔도뉴클레아제는 매우 널리 퍼져 있으며, 미생물뿐만 아니라 파지 및 바이러스에서 발견된다. LAGLIDADG 및 His-Cys 박스 효소(이들 효소 중 가장 서열 특이적임)는 그들의 DNA 표적 부위의 주요 홈에 도킹되는 반평행 β-시트에 의존한다(참조: Flick et al., Nature **394**(6688):96-101 (1998); Jurica et al., Mol. Cell. **2**(4):469-76 (1998)). 거기서 그들은 다수의 연속적인 염기쌍에 걸쳐 불균일하게 분포되는 서열-특이적 및 비특이적 접촉들의 집합체를 확립한다(참조: Chevalier et al., J Mol Biol **329**(2):253-269 (2003); Scalley-Kim et al., J Mol Biol. **372**(5):1305-19 (2007)).

[2026] LAGLIDADG 호밍 엔도뉴클레아제(LHE) 패밀리는 유전자 표적화 적용에 사용되는 조작된 효소의 주요 공급원이다. LHE 패밀리는 주로 고세균 내에서 그리고 조류 및 진균의 염록체 및 미토콘드리아 게놈 내에서

인코딩된다(참조: Chevalier et al., in *Homing Endonucleases and Inteins. Nucleic Acids and Molecular Biology*, vol. 16 (2005); Dalgaard et al., *Nucleic Acids Res.* **25(22)**:4626-38 (1997); Sethuraman et al., *Mol Biol Evol.* **26(10)**:2299-315 (2009)). 단백질 쇠당 단일 보존된 LAGLIDADG 모티프(서열번호 174)를 소유하는 메가뉴클레아제는 회문 및 거의 회문 DNA 표적 서열을 절단하는 동종이량체 단백질을 형성하는 반면, 단백질 쇠당 두 개의 이러한 모티프를 함유하는 것들은 완전히 비대칭 DNA 서열을 표적화할 수 있는 더 큰 의사 대칭성 단량체를 형성한다.

[2027] 메가뉴클레아제는 TCR 및/또는 HLA를 표적으로 하도록 조작될 수 있고, 따라서 DNA에 이중 가닥 파단을 생성할 수 있으며, 이는 부적절하게 복구될 경우 프레임 시프트 돌연변이를 생성하여 세포에서 TCR 및/또는 HLA의 발현 및 양을 감소시킬 수 있다.

[2028] "MegaTAL" 또는 "TCR 및/또는 HLA에 대한 megaTAL" 또는 "TCR 및/또는 HLA를 억제하는 megaTAL"은 TCR 및/또는 HLA 유전자를 편집하는데 사용될 수 있는 인공 뉴클레아제를 지칭한다. MegaTAL은 LAGLIDADG 호밍 엔도뉴클레아제 패밀리에로부터 유래된 메가뉴클레아제의 N 말단에 최소 TAL(전사 활성화제-유사) 이펙터 도메인의 융합을 통해 수득된 하이브리드 단량체성 뉴클레아제이다(참조: Boissel et al., *Nucleic Acids Res.* **42(4)**:2591-601 (2014); Takeuchi et al., *Methods Mol Biol.* **1239**:105-32 (2015)). 따라서, MegaTAL은 TAL 이펙터 DNA 결합 도메인에 의해 제공되는 추가의 친화도 및 특이성을 갖는 부위-특이적 메가뉴클레아제 절단 헤드로 구성된다.

[2029] MegaTAL은 TCR 및/또는 HLA를 표적으로 하도록 조작될 수 있으며, 따라서 DNA에 이중 가닥 파단을 생성할 수 있으며, 이는 부적절하게 복구될 경우 프레임 시프트 돌연변이를 생성하여 세포에서 TCR 및/또는 HLA의 발현 및 양을 감소시킬 수 있다.

[2030] 일부 구현예에서, 텔로머라제 유전자에 의한 형질감염은 T 세포의 텔로미어를 길게 하고 환자에서 T 세포의 지속성을 향상시킬 수 있다. 예를 들어, 문헌(June, *Journal of Clinical Investigation* **117**: 1466-1476 (2007))을 참조한다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 발명의 유전적으로 변형된 면역 세포는 텔로머라제 서브유닛, 예를 들어, 텔로머라제의 촉매 서브유닛, 예를 들어, TERT, 예를 들어, hTERT를 이소성으로 발현한다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포를 텔로머라제 서브유닛, 예를 들어, 텔로머라제의 촉매 서브유닛, 예를 들어, TERT, 예를 들어, hTERT를 인코딩하는 핵산과 접촉시키는 단계를 포함하는, 본 발명의 키메라 수용체 발현 세포의 제조 방법을 제공한다. 세포는 키메라 수용체(예: 본원에 기재된 CAR)를 인코딩하는 작제물과 접촉 전, 동시에, 또는 후에 핵산과 접촉될 수 있다.

[2031] 본 발명은 추가로 본 발명의 면역 세포를 수득하는 방법에 관한 것이며, 여기서 상기 방법은 적어도 하나의 면역 세포를 본원에 기재된 CAR을 인코딩하는 핵산으로 형질도입하는 단계 및 임의로 형질도입된 세포를 확장시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 생체의 방법이다.

[2032] 하나의 구현예에서, 본 발명의 면역 세포를 수득하는 방법은 다음을 포함한다:

[2033] - PBMC 집단(예: 백혈구 성분채집에 의해 회수됨)으로부터 면역 세포의 분리 단계,

[2034] - 유전적 변형 단계로서, 상기 본원에 기재된 바와 같은 CAR을 인코딩하는 핵산 서열이 면역 세포 내에 도입되거나 전달되는, 단계,

[2035] - 임의로, 확장 단계,

[2036] - 임의로, 세척 단계 및

[2037] - 임의로, 동결 단계.

[2038] 하나의 구현예에서, 유전자 변형 단계(들)는 유전자 파단 단계, 유전자 교정 단계 또는 유전자 부가 단계, 바람직하게는 유전자 부가 단계에 상응한다. 하나의 구현예에서, 유전자 변형 단계(들)는 형질감염, 형질도입 또는 유전자 편집을 포함하지만 이에 제한되지 않는 그룹으로부터 선택된 방법에 의해 수행된다.

[2039] 본 발명에 사용될 수 있는 유전자 편집 방법의 예는 조작된 뉴클레아제에 기초한 방법, 재조합 아데노-관련 바이러스(또는 AAV)에 기초한 방법, 트랜스포존에 기초한 방법(예: 슬리핑 뷰티 트랜스포존 시스템), 상동성 재조합에 기초한 방법, 부위-특이적 재조합효소를 이용한 조건부 표적화(예: Cre-LoxP 및 Flp-FRT 시스템), 및 멀티플렉스 자동화 게놈 공학(MAGE)을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[2040] 조작된 뉴클레아제의 비제한적 예는 클러스터형 규칙적으로 배치된 짧은 회문 반복체(CRISPR) 전사-활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), 아연 핑거 엔도뉴클레아제(ZFN), 메가뉴클레아제(mn, 호밍 엔도뉴클레아제로도

공지됨), 또는 megaTAL(TAL 이펙터와 mn 절단 도메인을 조합함)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[2041] 하나의 구현예에서, 본 발명의 면역 세포를 수득하는 방법은 다음을 포함한다:

[2042] - PBMC 집단(예: 백혈구 성분채집에 의해 회수됨)으로부터 면역 세포의 분리 단계,

[2043] - 상기 본원에 기재된 바와 같은 CAR을 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터를 이용한 형질도입 또는 형질감염 단계,

[2044] - 임의로, 확장 단계,

[2045] - 임의로, 세척 단계 및

[2046] - 임의로, 동결 단계.

[2047] 본 발명은 추가로 본원에 기재된 CAR을 발현하는 면역 세포, 및 이러한 면역 세포의 집단에 관한 것이다.

[2048] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR을 인코딩하는 핵산은 면역 세포 내로 도입되어 세포 표면 상에서 CAR을 발현하는 조작된 세포를 생성시킨다. 따라서, 본 발명은 또한 본 발명의 CAR을 인코딩하는 핵산에 관한 것이다.

[2049] 일부 구현예에서, 본 발명의 면역 세포는 포유류 면역 세포, 예를 들어, 인간 면역 세포, 농장 동물(예: 소, 돼지 또는 말)로부터의 면역 세포, 또는 애완동물(예: 고양이 또는 개)로부터의 면역 세포이다.

[2050] 일부 구현예에서, 면역 세포는 림프구, 골수 유래 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 면역 세포는, 예를 들어, T 세포, B 세포, 자연 살해(NK) 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 림프구이다. 특정 구현예에서, 면역 세포는 T 세포이고, 이는 특정 구현예에서 $CD4^{+}$ T 세포, $CD8^{+}$ T 세포, $\gamma\delta$ T 세포, 이중 음성(DN) T 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 면역 세포는 $CD4^{+}$ T 세포, 예를 들어, T 헬퍼 세포, 조절 T 세포, 이펙터 T 세포, 및 이들의 임의의 조합이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 $CD8^{+}$ T 세포, 예를 들어, 세포독성 $CD8^{+}$ T 세포 또는 $CD8^{+}$ 조절 T 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 $\gamma\delta$ T 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 정의된 감마 델타 TCR (TEG $\gamma\delta$) 세포를 발현하도록 조작된 T 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 DN T 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 NK 세포이다.

[2051] 일부 구현예에서, 면역 세포는 조절 면역 세포, 예를 들어, 세포 요법에 사용하기에 적합한 임의의 조절 면역 세포이다. 특정 구현예에서, 조절 면역 세포는 조절 T 세포, $CD4^{+}$ 조절 T 세포, $CD8^{+}$ 조절 T 세포, 조절 $\gamma\delta$ T 세포, 조절 DN T 세포, 조절 B 세포, 조절 NK 세포, 조절 대식세포, 조절 수지상 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[2052] 일부 구현예에서, 조절 면역 세포는 조절 T 세포(Treg), 특히 흉선 유래 Treg 또는 적응성 또는 유도된 Treg이다. 특정 구현예에서, 면역 세포는 $CD4^{+}$ 조절 T 세포(Treg)이다. 특정 구현예에서, Treg는 흉선 유래 Treg 또는 적응성 또는 유도된 Treg이다. 특정 구현예에서, Treg는 $CD4^{+}FoxP3^{+}$ 조절 T 세포 또는 $CD4^{+}FoxP3^{-}$ 조절 T 세포(Tr1 세포)이다. 특정 구현예에서, 면역 세포는 $CD4^{+}FoxP3^{+}$ 조절 T 세포이다.

[2053] 일부 구현예에서, 면역 세포는 $CD8^{+}$ 조절 T 세포이다. $CD8^{+}$ 조절 T 세포의 예는 $CD8^{+}CD28^{-}$ 조절 T 세포, $CD8^{+}CD103^{+}$ 조절 T 세포, $CD8^{+}FoxP3^{+}$ 조절 T 세포, $CD8^{+}CD122^{+}$ 조절 T 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[2054] 일부 구현예에서, 조절 면역 세포는 조절 $\gamma\delta$ T 세포이다.

[2055] 일부 구현예에서, 조절 면역 세포는 조절 DN T 세포이다.

[2056] 일부 구현예에서, 조절 면역 세포는 조절 NK 세포이다.

[2057] 일부 구현예에서, 면역 세포는 이펙터 면역 세포, 예를 들어, 세포 요법에 사용하기에 적합한 임의의 이펙터 면역 세포이다. 특정 구현예에서, 이펙터 면역 세포는 이펙터 T 세포, $CD4^{+}$ 이펙터 T 세포, $CD8^{+}$ 이펙터 T 세포, 이펙터 $\gamma\delta$ T 세포, 이펙터 DN T 세포, 이펙터 NK 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

택된다.

- [2058] 일부 구현예에서, 면역 세포는 이펙터 T 세포이다. 특정 구현예에서, 이펙터 면역 세포는 $CD4^{+}$ 이펙터 T 세포이다. $CD4^{+}$ 이펙터 T 세포의 예는 Th1 세포, Th2 세포, Th9 세포, Th17 세포, Th22 세포, $CD4^{+}T$ 여포성 헬퍼 (Tfh) 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 이펙터 면역 세포는 $CD8^{+}$ 이펙터 T 세포이다. $CD8^{+}$ 이펙터 T 세포의 예는 $CD8^{+}CD45RO^{+}CCR7^{-}CD62L^{-}$ 이펙터 T 세포, $CD8^{+}CD45RA^{+}CCR7^{-}CD62L^{-}$ 이펙터 T 세포, 및 이들의 임의의 조합을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [2059] 하나의 구현예에서, 면역 세포는 이펙터 $\gamma\delta$ T 세포이다.
- [2060] 하나의 구현예에서, 면역 세포는 이펙터 DN T 세포이다.
- [2061] 일부 구현예에서, 면역 세포는 이펙터 NK 세포이다.
- [2062] 일부 구현예에서, 면역 세포는 T 세포, 자연 살해(NK) 세포, $\gamma\delta$ T 세포, 이중 음성(DN) 세포, 조절 면역 세포, 조절 T 세포, 이펙터 면역 세포, 이펙터 T 세포, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [2063] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR을 인코딩하는 핵산은 게놈 편집 후 Treg 세포로 분화되는 비-Treg 림프성 세포 내로 도입된다. 편집된 비-Treg 세포는 상기 기재된 바와 같이 환자 내로 생착되기 전에 Treg 세포로 분화될 수 있다. 대안적으로, 편집된 비-Treg 세포는 환자 내로 생착된 후에 Treg 세포로 분화되도록 유도될 수 있다.
- [2064] 일부 구현예에서, 분자의 발현 수준은 유세포 계측법, 면역형광 또는 이미지 분석, 예를 들어, 고함량 분석에 의해 결정된다. 특정 구현예에서, 분자의 발현 수준은 유세포 계측법에 의해 결정된다. 특정 구현예에서, 유세포 계측법 분석을 수행하기 전에, 세포는 고정되고 투과되어 세포내 단백질의 검출을 허용한다.
- [2065] 일부 구현예에서, 세포 집단에서 분자의 발현 수준을 결정하는 것은 분자를 발현하는 세포 집단의 세포의 백분율(즉, 분자에 대한 세포 "+")을 결정하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 분자를 발현하는 세포의 상기 백분율은 FACS에 의해 측정된다.
- [2066] 용어 "**발현하는**", "**양성**", 또는 "+" 및 "**발현하지 않는**", "**음성**" 또는 "-"는 당업계에 익히 공지되어 있고, "+"에 상응하는 세포 마커의 발현 수준이 높거나 중간("+/-"로도 지칭됨)이고, "-"에 상응하는 세포 마커의 발현 수준은 null이라는 점에서 관심 있는 세포 마커의 발현 수준을 지칭한다.
- [2067] 용어 "**낮은**" 또는 "**lo**" 또는 "**lo/-**"는 당업계에 익히 공지되어 있고, 세포 마커의 발현 수준이 전체로 분석되는 세포 집단에서 그 세포 마커의 발현 수준과 비교하여 낮다는 점에서 관심 있는 세포 마커의 발현 수준을 지칭한다. 보다 구체적으로, 용어 "**lo**"는 하나 이상의 다른 별개의 세포 집단보다 낮은 수준에서 세포 마커를 발현하는 별개의 세포 집단을 지칭한다.
- [2068] 용어 "**높은**" 또는 "**hi**" 또는 "**hlo**"는 당업계에 익히 공지되어 있고, 세포 마커의 발현 수준이 전체로 분석되는 세포 집단에서 그 세포 마커의 발현 수준과 비교하여 높다는 점에서 관심 있는 세포 마커의 발현 수준을 지칭한다.
- [2069] 일반적으로, 염색 강도의 상위 2, 3, 4 또는 5%에 있는 세포는 "**hi**"로 지정되며, 집단의 상위 절반에 속하는 것들은 "+"로 분류된다. 형광 강도의 50% 이하로 떨어지는 세포는 "**lo**" 세포로, 5% 미만은 "-" 세포로 지정된다.
- [2070] 관심 있는 세포 마커의 발현 수준은 이 마커에 특이적인 형광 표지된 항체로 염색된 세포 집단으로부터의 세포의 중간 형광 강도 또는 평균 형광 강도(MFI)를 무관한 특이성을 갖지만 동일한 아이소타입, 동일한 형광 프로브를 갖고 동일한 중(아이소타입 대조군으로서 지칭됨)으로부터 유래된 형광 표지 항체로 염색된 동일한 세포 집단으로부터의 세포의 형광 강도(FI)와 비교함으로써 결정된다. 이 마커에 특이적이고 아이소타입 대조군으로 염색된 세포와 동등한 MFI 또는 더 낮은 MFI를 나타내는 형광 표지 항체로 염색된 집단으로부터의 세포는 이 마커를 발현하지 않는 것으로 간주되고, (-) 또는 음성으로 지정된다. 이러한 마커에 특이적이고 아이소타입 대조군으로 염색된 세포보다 우수한 MFI 값을 나타내는 형광 표지 항체로 염색된 집단으로부터의 세포는 이 마커를 발현하는 것으로 간주되고, (+) 또는 양성으로 지정된다.
- [2071] 본 발명은 또한 본원에 정의된 바와 같은 단리된 및/또는 실질적으로 정제된 면역 세포 집단에 관한 것이다.
- [2072] 따라서, 본 발명은 단리된 및/또는 실질적으로 정제된 면역 세포 집단을 제공하며, 여기서 집단의 세포는 본원

에 기재된 바와 같은 CAR을 포함한다.

- [2073] 본원에 사용된 바와 같이, "단리된 집단"은 그의 자연 환경(예: 말초 혈액)으로부터 제거되고, 단리, 정제 또는 분리되며, 그것이 자연적으로 존재하는 다른 세포를 적어도 약 75% 비함유, 80% 비함유, 85% 비함유하고, 특정 구현예에서 약 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 비함유하지만, 세포가 단리된 것에 기초한 세포 표면 마커가 결여되어 있는 세포 집단을 지칭한다.
- [2074] 본 발명은 추가로 본원에 정의된 바와 같은 면역 세포의 농축된 집단에 관한 것이다.
- [2075] 일부 구현예에서, 본 발명의 단리, 정제 및/또는 농축된 면역 세포 집단은 동결 및 해동되었다.
- [2076] 일부 구현예에서, 본 발명의 조절 면역 세포는 $CD4^{+}CD25^{+}FoxP3^{+}$ Treg, Tr1 세포, TGF- β 분비 Th3 세포, 조절 NK T 세포, 조절 $\gamma\delta$ T 세포, 조절 $CD8^{+}$ T 세포, 및 이중 음성 조절 T 세포로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.
- [2077] 일부 구현예에서, 면역 세포는 자가 세포이다.
- [2078] 일부 구현예에서, 면역 세포는 이중 세포이다.
- [2079] 일부 구현예에서, 면역 세포는 동종 세포이다.
- [2080] 일부 구현예에서, 본 발명의 면역 세포 집단은 그의 세포 표면에서 본 발명의 CAR(본원에서 "제1 수용체"로서 지칭됨) 및 인간 CD45RC보다 다른 별개의 리간드에 결합하는 또 다른 수용체(본원에서 "제2 수용체"로 지칭됨)를 발현한다. 특정 구현예에서, 제2 수용체는, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이, 세포의 리간드 결합 도메인, 임의로 힌지 도메인, 적어도 하나의 막관통 도메인, 및 적어도 하나의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [2081] 일부 구현예에서, 제2 수용체는 내인성(예: 내인성 TCR)이다. 일부 구현예에서, 제2 수용체는 외인성이고, 그의 발현은 그를 인코딩하는 핵산의 형질전환 또는 형질도입에 의해 본 발명의 면역 세포 집단에서 유도된다. 상기 외인성 수용체는 외인성 TCR 또는 CAR일 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 발명의 면역 세포 집단은 두 개의 CAR을 발현하며, 여기서 첫 번째는 인간 CD45RC를 인식하고, 두 번째는 별개의 리간드를 인식한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 면역 세포 집단은 두 개의 CAR을 발현하며, 여기서 첫 번째는 인간 CD45RC 상의 제1 에피토프를 인식하고, 두 번째는 인간 CD45RC 상의 제2의 별개의 에피토프를 인식한다. 일부 구현예에서, 본 발명의 면역 세포 집단은 두 개의 CAR을 발현하며, 여기서 첫 번째는 인간 CD45RC를 인식하고, 두 번째는 제2의 별개의 항원(예: 인간 CD45RC의 항원 변이체)을 인식한다.
- [2082] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR 및 제2 수용체(예: 제2 CAR) 중 적어도 하나는 유도성이고, 즉 세포 표면에서의 그의 발현이 유도될 수 있다.
- [2083] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR 및 제2 수용체(예: 제2 CAR) 중 적어도 하나의 발현은 다른 수용체의 활성화에 의해 유도된다. 특정 구현예에서, 본 발명의 CAR의 발현은 제2 수용체의 활성화에 의해 유도된다. 특정 구현예에서, 제2 수용체의 발현은 본 발명의 CAR의 활성화에 의해 유도된다. 유도성 CAR은, 예를 들어, 문헌(참조: Roybal et al. (Cell, 2006))에 의해 당업계에 기재되었다.
- [2084] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR은 제1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 수용체는 별개의 제2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 제1 구현예에서, 본 발명의 CAR은 T 세포 1차 신호전달 도메인(예: CD3 제타)을 포함하고, 제2 수용체는 공동자극 신호전달 도메인(예: 4-1BB, CD28 또는 4-1BB와 CD28의 공동자극 신호전달 도메인의 조합)을 포함한다. 제2 구현예에서, 본 발명의 CAR은 공동자극 신호전달 도메인(예: 4-1BB, CD28 또는 4-1BB와 CD28의 공동자극 신호전달 도메인의 조합)을 포함하고, 제2 수용체는 T 세포 1차 신호전달 도메인(예: CD3 제타)을 포함한다.
- [2085] 결과적으로, 이들 구현예에 따르면, 본 발명의 면역 세포 집단의 완전한 활성화는 인간 CD45RC에 대한 본 발명의 CAR의 결합, 및 그것이 지시되는 리간드에 대한 제2 수용체의 결합 둘 다를 필요로 한다.
- [2086] 하나의 구현예에서, 제2 수용체에 의해 인식되는 리간드는 병든 조직 또는 기관에서 또는 자가 면역 반응의 부위에서 발현되거나 존재한다. 결과적으로, 인간 CD45RC를 발현하는 세포에 대한 억제 활성화는 상기 리간드가 존재하고 면역 세포 집단의 세포 상의 제2 수용체에 의해 인식될 때 병든 조직 또는 기관 또는 자가 면역 반응의 부위에서만 유도될 것이다.
- [2087] 하나의 구현예에서, 본 발명의 키메라 수용체는 키메라 수용체에 의해 인식되는 인간 CD45RC와 구별되는 리간드

를 인식하는 세포의 리간드 결합 도메인을 추가로 포함한다. 하나의 구현예에서, 상기 리간드 결합 도메인은 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.

- [2088] 하나의 구현예에서, 본 발명의 키메라 수용체는 인간 CD45RC 결합 도메인 및 상기 인간 CD45RC와 구별되는 리간드를 인식하는 또 다른 리간드 결합 도메인을 포함하는 세포의 리간드 결합 도메인을 포함한다. 하나의 구현예에서, 상기 리간드 결합 도메인은 인간 CD45RC 및 별개의 리간드 둘 다를 인식하는 이작용성 항체이다.
- [2089] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단을 포함하는 조성물이다.
- [2090] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 조성물이다.
- [2091] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 적어도 하나의 발현 벡터를 포함하는 조성물이다.
- [2092] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단; 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이다.
- [2093] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산; 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이다.
- [2094] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 적어도 하나의 발현 벡터; 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 비히클을 포함하는 약제학적 조성물이다.
- [2095] 용어 "**약제학적으로 허용되는 부형제**"는 임의의 및 모든 용매, 분산 매체, 코팅제, 향균제 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연 제제 등을 포함한다. 상기 부형제는 동물, 바람직하게는 인간에게 투여될 때 부작용, 알레르기 또는 다른 부적당한 반응을 생성하지 않는다. 인간 투여를 위해, 제제는, 예를 들어, FDA 사무실 또는 EMA와 같은 규제 사무실에 의해 요구되는 무균성, 발열성 및 일반적 안전성 및 순도 표준을 충족시켜야 한다.
- [2096] 이러한 조성물에 사용될 수 있는 약제학적으로 허용되는 부형제는 이온 교환제, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질, 예를 들어, 인간 혈청 알부민, 완충 물질, 예를 들어, 포스페이트, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트, 포화된 식물성 지방산, 물, 염 또는 전해질의 부분 글리세라이드 혼합물, 예를 들어, 프로타민 설페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연 염, 콜로이드성 실리카, 삼규산마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스 기반 물질(예: 나트륨 카복시메틸셀룰로스), 폴리에틸렌 글리콜, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 양모지를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [2097] 하나의 구현예에서, 본 발명에 따르는 약제학적 조성물은 대상체에게 주입될 수 있는 제형에 약제학적으로 허용되는 비히클을 포함한다. 이들은 특히 등장성, 무균성, 식염수 용액(인산이나트륨 또는 인산이나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘 또는 염화마그네슘 등 또는 이러한 염의 혼합물), 또는 경우에 따라 멸균수 또는 생리 식염수의 첨가시 주사 가능한 용액의 구성을 허용하는 건조, 특히 동결건조된 조성물일 수 있다.
- [2098] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단을 포함하는 의약이다.
- [2099] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 의약이다.
- [2100] 본 발명의 추가의 목적은 본 발명에 따르는 hCD45RC에 결합하는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 적어도 하나의 발현 벡터를 포함하는 의약이다.
- [2101] 본 발명은 추가로 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 또는 약제학적 조성물을 투여하여 이를 필요로 하는 대상체에서 면역 내성을 유발하는 방법에 관한 것이다. 그것은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 면역 내성을 유도하는 데 사용하기 위한 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [2102] 본원에 사용된 용어 "**면역 내성**"은 다른 물질 또는 조직에 대한 면역 반응을 보존하면서 면역 반응을 유발하는

능력을 갖는 특정 물질 또는 조직에 대한 면역계의 무반응 상태에 관한 것이다.

- [2103] 본원에 사용된 용어 "면역 반응"은 T 세포 매개 및/또는 B 세포 매개 면역 반응을 포함한다. 예시적 면역 반응은 T 세포 반응(예: 사이토카인 생산 및 세포상 세포독성) 뿐만 아니라 T 세포 활성화(예: 대식세포)에 의해 간접적으로 영향을 받은 면역 반응을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 면역 반응에 포함되는 면역 세포는 림프구(예: $CD4^+$, $CD8^+$, T_H1 및 T_H2 세포를 포함하는 B 세포 및 T 세포), 항원 제시 세포(예: 전문적인 항원 제시 세포, 예를 들어, 수지상 세포), 자연 살해 세포, 골수 세포(예: 대식세포, 호산구, 비만 세포, 호염기구 및 과립구)를 포함한다.
- [2104] 본 발명은 추가로 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물을 투여하여 이를 필요로 하는 대상체에서 $CD45RC^{hi}$ 세포를 고갈시키는 방법에 관한 것이다. 그것은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 $CD45RC^{hi}$ 세포를 고갈시키는 데 사용하기 위한 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [2105] hCD45RC의 상대적 발현 수준은 혈구 계산을 사용하여 측정된다. 3개 유형의 세포가 구별될 수 있다: 높은, 중간 또는 음성 수준의 hCD45RC 발현을 나타내는 세포.
- [2106] 하나의 구현예에서, 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 $CD45RC^{hi}$ T 세포를 고갈시킨다.
- [2107]
- [2108] " $CD45RC^{hi}$ 세포 항원" 또는 " $CD45RC^{hi}$ 세포 표면 마커"
- [2109] 본원에 사용된 용어 " $CD45RC^{hi}$ 세포 항원" 또는 " $CD45RC^{hi}$ 세포 표면 마커"는 이에 결합하는 항-CD45RC 체제(예: 항체 또는 앵타머)로 표적화될 수 있는 $CD45RC^{hi}$ 세포(T 세포, B 세포 및 자연 살해(NK) 세포 포함)의 표면에서 발현되거나 표시되는 서열번호 23 서열의 항원 (또는 에피토프)을 지칭한다. 예시적인 $CD45RC^{hi}$ T 세포 표면 마커는 이전에 기재된 바와 같은 CD45RC 또는 상기 T 세포의 집단을 특성화하는 다른 항원을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 특별한 관심 대상인 $CD45RC^{hi}$ T 세포 표면 마커는 포유동물의 다른 비- $CD45RC^{hi}$ T 세포와 비교하여 $CD45RC^{hi}$ T 세포에서 우선적으로 발현된다.
- [2110] 이어서, 상기 기재된 바와 같은 CD45RC 세포 표면 마커에 대해 지시된 항체를 상승시킨 후, 당업자는 $CD45RC^{hi}$ 세포에서 작용하고, 항체 의존 세포 매개된 세포독성(ADCC), 보체 의존성 세포독성(CDC), 또는 항체의 직접 결합 후 $CD45RC^{hi/-}$ 세포사(예: 아포토시스를 통해)가 아니라 $CD45RC^{hi}$ 의 유도를 통해 $CD45RC^{hi}$ 세포를 고갈시키는 데 사용될 수 있는 것들을 쉽게 선택할 수 있다(참조: Picarda *et al.*, 2017. *JCI Insight*. 2(3):e90088).
- [2111] " $CD45RC^{hi}$ T 세포"는 상기 정의된 바와 같이, 높은 수준으로 CD45RC 마커를 발현하는 T 세포이다. $CD45RC^{hi}$ T 세포를 고갈시키는 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물이 또한 다른 유형의 $CD45RC^{hi}$ 세포, 예를 들어, $CD45RC^{hi}$ NK 세포 또는 $CD45RC^{hi}$ B 세포를 고갈시킬 수 있음을 당업자가 쉽게 이해한다.
- [2112] CD45RC를 발현하는 세포와 관련하여 본원에 사용된 용어 "고갈시킨다" 또는 "고갈시키는"은 대상체의 세포 수의 측정 가능한 감소를 지칭한다. 감소는 적어도 약 10%, 예를 들어, 적어도 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 용어는 대상체 또는 샘플에서 $CD45RC^{hi}$ 세포의 수가 검출 가능한 한계 이하의 양으로 감소함을 지칭한다. 본 발명에 따라서, CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 CD45RC를 강하게 발현하는 이펙터 세포, 특히 $CD45RC^{hi}$ T_{eff} 로서 설계된 것들의 고갈을 특이적으로 매개한다.
- [2113] 특히, 본 발명에 따르는 상기 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 hCD45RC에 결합하고 프로아포토시스 신호를 형질도입하고/하거나 항체 의존적 세포 매개 세포독성(ADCC), 보체 의존성 세포독

성(CDC) 또는 항체 의존성 식균 작용을 활성화함으로써 CD45RC^고 T 세포를 고갈시킨다.

- [2114] 일부 구현예에서, 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 보체 의존성 세포 독성을 매개한다.
- [2115] 특정 구현예에서, 본 발명에 따르는 단리된 CAR은 세포 독성제 또는 성장 억제제에 접합될 수 있다.
- [2116] 본 발명은 추가로 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물을 투여하여 이를 필요로 하는 대상체에서 조절 T 세포를 확장시키고/시키거나 강화하는 방법에 관한 것이다. 그것은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 조절 T 세포를 확장시키고/시키거나 강화하는 데 사용하기 위한 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [2117] 본원에 사용된 용어 "**확장하다**"는 소정의 세포 집단(예: 면역 세포, 예를 들어, Treg)을 전환시키고/시키거나 증폭시키는 과정을 지칭한다. 세포 집단의 확장은 생체내, 시험관내 또는 생체외에서 발생할 수 있다.
- [2118] 본원에 사용된 용어 "**강화하다**"는 소정의 세포 집단의 기능을 증가시키는(예: Treg 세포의 억제 용량을 증가시키는) 과정을 지칭한다. 세포 집단의 강화는 생체내, 시험관내 또는 생체외에서 발생할 수 있다.
- [2119] "**조절 T 세포**" 또는 "**Treg**"는 비정상적 또는 과도한 면역 반응을 억제하고 면역 내성에서 역할을 하는 T 세포이다. Treg는 전형적으로 "포크헤드 박스 P3 (Foxp3⁺) 조절 T 세포" 및/또는 "CD45RC^{저/-} 세포"이다.
- [2120] 본원에 사용된 용어 "**포크헤드 박스 P3 (Foxp3⁺) 조절 T 세포**" 및/또는 "**CD45RC^{저/-} 세포**"는 특징적인 마커가 전사 인자 Foxp3인 인간 및 설치류에서 0.1 내지 10%의 CD4⁺ 및/또는 CD8⁺ T 세포를 지칭한다.
- [2121] 하나의 구현예에서, 상기 방법 및 용도는 Foxp3⁺ 및/또는 CD45RC^{저/-} Treg를 확장하고/하거나 강화시키기 위한 것이다.
- [2122] 하나의 구현예에서, CD45RC^{저/-} Treg는 자극에 의해 확장된다. 하나의 구현예에서, CD45RC^{저/-} Treg는 IL-2 및 IL-15의 존재하에 자극에 의해 확장된다. 하나의 구현예에서, CD45RC^{저/-} Treg는 항-CD3/항-CD28 항체 및/또는 동종이계 항원-제시 세포(APC) 및/또는 특정 항원에 의한 자극에 의해 확장된다.
- [2123] 추가로 또는 대안적으로, 본 발명은 CD45RC^{저/-} Treg를 정제하는 시험관내 또는 생체외 방법에 관한 것이다.
- [2124] 하나의 구현예에서, CD45RC^{저/-} Treg는 CD8⁺/CD4⁺ T 세포이다. 하나의 구현예에서, CD45RC^{저/-} Treg는 CD8⁺/CD4⁻ T 세포이다. 하나의 구현예에서, CD45RC^{저/-} Treg는 CD8⁻/CD4⁺ T 세포이다.
- [2125] 하나의 구현예에서, 정제된 CD45RC^{저/-} Treg는 이를 필요로 하는 대상체에게 투여 전, 투여와 동시에 또는 투여 후에 추가로 확장되고/되거나 강화될 수 있다.
- [2126] 본 발명은 추가로 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물을 투여하여 이식 거부를 예방하고/하거나 감소시키는 방법에 관한 것이다. 그것은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 이식 거부를 예방하고/하거나 감소시키는 데 사용하기 위한 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [2127] 용어 "**이식 거부를 예방하는**" 및 "**이식 거부를 감소시키는**"은 면역 이식 거부의 예방 또는 억제뿐만 아니라 면역 이식 거부의 발생 또는 진행을 지연시킴을 포함하는 것을 의미한다. 상기 용어는 또한 대상체에서 이식체의 생존을 연장시키거나 대상체에서 이식의 실패를 역전시킴을 포함하는 것을 의미한다. 또한, 상기 용어는, 예를 들어, 면역 거부와 관련된 면역학적 합병증, 예를 들어, 간질성 섬유증(interstitial fibrosis), 만성 이식편 동맥경화증(chronic graft arteriosclerosis) 또는 혈관염(vasculitis)을 개선시킴을 포함하여 면역 이식 거부 증상을 개선시킴을 포함하는 것을 의미한다.
- [2128] 용어 "**이식**" 및 이의 변형은 이식이 동종(공여자 및 수령자가 유전적으로 동일한 경우), 동종 이계(공여자 및 수령자가 상이한 유전적 기원이지만 동일한 종인 경우) 또는 이종 이계(공여자 및 수령자가 상이한 종으로부터 유래되는 경우)이든 수령자에게 이식체(또한 이식편이라 칭명됨)의 삽입을 지칭한다. 따라서, 전형적인 시나리오에서, 숙주는 인간이고, 이식편은 동일하거나 상이한 유전적 기원의 인간으로부터 유래된 동종이식편이다.

다른 시나리오에서, 이식편은 계통학적으로 널리 분리된 종으로부터의 동물, 예를 들어, 인간 숙주에 이식된 비 심장을 포함하여 그것이 이식된 것과 상이한 종으로부터 유래된다.

- [2129] 본원에 사용된 용어 "**이식 거부**"는 급성 및 만성 이식 거부 모두를 포함한다.
- [2130] "**급성 거부**"는 이식된 조직이 면역학적으로 외래인 경우 조직 이식체-수령자의 면역계에 의한 거부이다. 급성 거부는 이펙터 기능을 수행하고 이식 조직을 파괴하는 수령자의 면역 세포에 의한 이식 조직의 침윤을 특징으로 한다. 급성 거부의 발생은 빠르고, 일반적으로 이식 수술 후 수주 내에 인간에서 발생한다. 일반적으로, 급성 거부는 면역억제 약물, 예를 들어, 라파마이신, 사이클로스포린, 항-CD40L 모노클로날 항체 등으로 억제 또는 억압될 수 있다.
- [2131] "**만성 거부**"는 일반적으로 급성 거부의 성공적인 면역 억제의 존재하에서도 생착 후 수 개월 내지 수 년 내에 인간에서 발생한다. 섬유증은 모든 유형의 기관 이식의 만성 거부에 공통 요소이다
- [2132] 하나의 구현예에서, 이식 거부는 동종이계 이식 거부이다. 따라서, 하나의 구현예에서, 이식의 공여자는 인간이다. 이식의 공여자는 살아있는 공여자 또는 사망한 공여자, 즉 사체 공여자일 수 있다.
- [2133] 하나의 구현예에서, 이식체는 기관, 조직 또는 세포이다.
- [2134] 본원에 사용된 용어 "**기관**"은 유기체 내에서 특정 기능 또는 기능의 그룹을 수행하는 고형 혈관화 기관을 지칭한다. 용어 기관은 심장, 폐, 신장, 간, 췌장, 피부, 자궁, 골, 연골, 소장 또는 대장, 방광, 뇌, 유방, 혈관, 식도, 나팔관, 담낭, 난소, 췌장, 전립선, 태반, 척수, 상부 및 하부 포함 사지, 비장, 위, 고환, 흉선, 갑상선, 기관, 수뇨관, 요도, 자궁을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [2135] 본원에 사용된 용어 "**조직**"은 인간 또는 동물에서 임의 유형의 조직을 지칭하고, 혈관 조직, 피부 조직, 간 조직, 췌장 조직, 신경 조직, 비뇨생식기 조직, 위장 조직, 골 및 연골을 포함하는 골격 조직, 지방 조직, 힘줄 및 인대를 포함하는 결합 조직, 양막 조직, 용모막 조직, 두라, 심막, 근육 조직, 선상 조직, 안면 조직, 안구 조직을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [2136] 본원에 사용된 용어 "**세포**"는 관심 있는 세포가 풍부한 조성물, 바람직하게는 상기 세포를 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 50%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 65%를 포함하는 조성물을 지칭한다.
- [2137] 하나의 구현예에서, "**세포**"는 골수, 말초 혈액 또는 제대혈로부터 유도된 다분화능 조혈 줄기 세포; 또는 다능성(즉, 배아 줄기 세포[ES] 또는 유도된 다능성 줄기 세포[iPS]) 또는 심장 근육 세포, β -췌장 세포, 간세포, 뉴런 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 상이한 세포 계통의 다분화능 줄기 세포 유래 분화 세포를 포함하거나 이로 구성되는 그룹으로부터 선택된다.
- [2138] 이식이 동종 이계 조혈 줄기 세포 이식(HSCT)인 하나의 구현예에서, "세포"는 일반적으로 골수, 말초 혈액 또는 제대혈로부터 유래된 다분화능 조혈 줄기 세포를 포함하거나 이로 구성되는 그룹으로부터 선택된다.
- [2139] "HSCT" 또는 "**조혈 줄기 세포 이식**"은 백혈병 및 림프종(제한 없이, 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia; AML), 급성 림프구성 백혈병(acute lymphoid leukemia; ALL), 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia; CML), 골수이형성 증후군(myelodysplasia syndrome; MDS), 골수증식성 증후군(myeloproliferative syndrome), 호지킨 림프종(Hodgkin lymphoma), 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin lymphoma), 만성 림프성 백혈병(chronic lymphatic leukemia; CLL) 및 다발성 골수종(multiple myeloma)을 포함)으로 영향을 받은 환자에 대해 치료력이 있을 수 있는 이식 요법이다. 그러나, 동종 이계 HSCT의 중요한 제한은 이식편-대-숙주 질환(GVHD)의 발생이며, 이는 이 요법을 받는 인간의 약 30 내지 50%에서 중증 형태로 발생한다.
- [2140] 따라서, 하나의 구현예에서, 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 GVHD를 예방하고/하거나 감소시키는 데 사용된다.
- [2141] 추가의 구현예에서, 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 백혈병 및/또는 림프종(제한 없이, 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 만성 골수성 백혈병(CML), 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 증후군, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 만성 림프성 백혈병(CLL) 및 다발성 골수종을 포함)을 예방하고/하거나 치료하기 위해 다분화능 조혈 줄기 세포와 조합하여 사용될 수 있다.
- [2142] 추가로 또는 대안적으로, 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 이식편 조작용으로 사용될 수 있다.

- [2143] 하나의 구현예에서, 이식될 이식체는 CD45RC^{hi} 세포를 고갈시키기 위해 이식 전에 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물로 처리된다.
- [2144] 바람직한 구현예에서, 이식체는 골수이고, CD45RC^{hi} T 세포를 고갈시키기 위해 이식 전에 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물로 처리된다. 하나의 구현예에서, 골수는 CD45RC^{hi} T 세포 및 CD45RC^{hi/-} T 세포를 함유하는 CD34⁺ 세포를 포함한다.
- [2145] 본 발명은 추가로 이를 필요로 하는 대상체에게 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물을 투여하여 CD45RC^{hi}-관련 질환, 장애 또는 상태를 예방하고, 감소시키고/시키거나 치료하는 방법에 관한 것이다. 그것은 또한 CD45RC^{hi}-관련 질환, 장애 또는 상태를 예방하고/하거나 치료하는 데 사용하기 위한 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [2146] 본원에 사용된 용어 "CD45RC^{hi}-관련 질환, 장애 또는 상태"는 대상체에서 hCD45RC 세포를 발현하는 세포의 증가된 비율에 의해 및/또는 대상체의 세포에서 hCD45RC의 증가된 발현 수준에 의해 유발되거나 가능하게 되는 질환, 장애 또는 상태를 지칭한다.
- [2147] "대상체에서 CD45RC^{hi} 세포의 증가된 비율"이란, 예를 들어, 실질적으로 건강한 대상체에서 CD45RC^{hi} 세포의 수와 같은 참조와 비교하여 소정의 대상체에서 CD45RC를 발현하는 세포(즉, CD45RC^{hi} 세포)의 수의 약 5%, 바람직하게는 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 이상의 증가를 의미한다.
- [2148] "대상체의 세포에서 hCD45RC의 증가된 발현 수준"이란, 예를 들어, 실질적으로 건강한 대상체의 세포에서 hCD45RC의 발현 수준과 같은 참조와 비교하여 소정의 대상체의 세포에서 mRNA 수준에서든 단백질 수준에서든 hCD45RC의 발현 수준의 약 5%, 바람직하게는 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 이상의 증가를 의미한다.
- [2149] 하나의 구현예에서, hCD45RC^{hi}-관련 질환, 장애 또는 상태는 자가 면역 질환, 원하지 않은 면역 반응, 단일유전자 질환 및 림프종 또는 암을 포함하거나 이로 구성되는 그룹으로부터 선택된다.
- [2150] 하나의 구현예에서, hCD45RC^{hi}-관련 질환, 장애 또는 상태는 자가 면역 질환, 원하지 않은 면역 반응 및 단일유전자 질환을 포함하거나 이로 구성되는 그룹으로부터 선택된다.
- [2151] 본원에 사용된 용어 "자가 면역 질환"은 면역계가 조직에 대한 결과적인 손상과 함께 정상 숙주의 일부인 항원(즉, 자가-항원)에 대해 면역 반응(예: B 세포 또는 T 세포 반응)을 생성하는 질환을 지칭한다. 자가 면역 질환에서, 숙주의 면역계는 "자기"로서 특정 항원을 인식하지 못하고, 항원을 발현하는 숙주 조직에 대해 면역 반응이 장착된다.
- [2152] 본 발명에서 고려되는 예시적 자가 면역 질환은 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis), 청소년 소수관절염(juvenile oligoarthritis), 콜라겐-유발 관절염(collagen-induced arthritis), 보조제 유도 관절염(adjuvant-induced arthritis), 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 다발성 경화증(multiple sclerosis), 실험용 자가 면역 뇌척수염(experimental autoimmune encephalomyelitis), 염증성 장 질환(inflammatory bowel disease)(크론병(Crohn's disease) 및 궤양성 대장염(ulcerative colitis) 포함), 자가 면역 위 위축(autoimmune gastric atrophy), 심상성 천포창(pemphigus vulgaris), 건선(psoriasis), 백반증(vitiligo), 유형 1 당뇨병(type 1 diabetes), 비비만형 당뇨병(non-obese diabetes), 중증 근무력증(myasthenia gravis), 그레이브스병(Grave's disease), 하시모토의 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), 경화성 담관염(sclerosing cholangitis), 경화성 타액선염(sclerosing sialadenitis), 전신 홍반성 낭창(systemic lupus erythematosus), 자가 면역 혈소판 감소성 자반증(autoimmune thrombocytopenia purpura), 굿파스처 증후군(Goodpasture's syndrome), 애디슨병(Addison's disease), 전신 경화증(systemic sclerosis), 다발성근염(polymyositis), 피부근염(dermatomyositis), 후천적 혈우병(acquired hemophilia), 혈전성 혈소판 감소성 자반증(thrombotic thrombocytopenic purpura), 포도막염(uveitis), IgG4-관련 자가 면역 질환(예: 예를 들어, 문헌(참조: Klegger et al., 2015. Dtsch Arztebl Int. 112(8):128-135)의 표 1에 나열된 질환, 이 표는 참조로 포함된다) 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

- [2153] 바람직한 구현예에서, 자가 면역 질환은 전신 홍반성 낭창이다.
- [2154] 바람직한 구현예에서, 자가 면역 질환은 크론병 및 궤양성 대장염을 포함하는 염증성 장 질환이다. 바람직한 구현예에서, 자가 면역 질환은 크론병이다. 바람직한 구현예에서, 자가 면역 질환은 궤양성 대장염이다.
- [2155] 본원에 사용된 용어 "**원하지 않는 면역 반응**"은 임의의 불필요한 면역 반응, 바람직하게는 (i) 유전자 요법 도중에 발현된 단백질, (ii) 유전자 요법 도중에 사용된 벡터(예: 바이러스 벡터) 및/또는 (iii) 치료 단백질에 지시된 임의의 불필요한 면역 반응을 지칭한다. 이러한 단백질은, 예를 들어, 인자 VIII(혈우병 A) 및 다른 응고 인자, 효소 대체 요법, 모노클로날 항체(예: 나탈리주맙, 리톡시맙, 인플릭시맙), 폴리클로날 항체, 효소 및 사이토카인(예: IFN β)을 포함한다. 용어 "**원하지 않는 면역 반응**"은 또한 알레르기 및 알레르기 반응을 지칭한다.
- [2156] 하나의 구현예에서, 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 면역 반응을 억제하기 위해, 특히 그들의 발현이 상응하는 유전적 결핍을 갖는 대상체에서 유전자 요법에 의해 복원될 때 특정 단백질에 대한 면역 반응을 예방하기 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 보통 돌연변이로 인해 대상체에서 부재인 단백질에 대한 면역 반응성을 방지하기 위해 사용될 수 있는 반면, 그들의 재구성은 유전자 요법에 의해 달성된다. 더욱이, 단백질 요법은 더 널리 보급되고 있는 의학적 혁신의 영역이고, 치료 생성물로서 대상체에게 직접 효소, 항체 또는 사이토카인과 같은 단백질의 적용을 포함한다. 이러한 의학의 전달에서 주요 장애물 중 하나는 치료 단백질 자체에 대해 지시된 면역 반응을 포함한다. 단백질 기반 치료제의 투여는 종종 단백질의 더 긴 수명 및 따라서 유기체의 세포 및 조직으로 단백질의 증가된 흡수를 촉진시키기 위해 사용된 면역 억제제의 투여에 의해 동반된다. 그러나, 일반적인 면역 억제제는 수행되어 환자에서 불필요한 부작용을 초래하는 면역 억제제의 비특이적 특성으로 인해 불리할 수 있다. 따라서, 이 접근법은 치료 항체, 사이토카인, 효소 또는 환자에게 투여된 임의의 다른 단백질과 같은 치료 단백질 및 캡티드에 대한 면역 반응을 억제하기 위해 적용될 수 있다.
- [2157] 하나의 구현예에서, 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물은 면역 반응을 억제하기 위해, 특히 유전자 요법에 사용된 벡터, 특히 유전자 요법에 사용된 바이러스 벡터에 대한 면역 반응을 방지하기 위해 대상체에게 투여될 수 있다. 이러한 바이러스 벡터는, 예를 들어, 아데노 관련 바이러스(AAV) 벡터, 아데노바이러스(Ad) 벡터, 렌티바이러스 벡터 등을 포함한다. 검토를 위해, 문헌(참조: Nayak & Herzog, 2010. *Gene Ther.* 17(3):295-304)을 참조한다.
- [2158] 본원에 사용된 용어 "**알레르기**" 또는 "**알레르기들**"은 면역계의 부적절한 반응을 지칭한다. 알레르기 반응은 알레르겐으로서 공지된 통상적으로 무해한 환경 물질에 일어나고; 이러한 반응은 후천적이고, 예측 가능하며 빠르다. 엄밀하게, 알레르기는 4가지 형태의 과민증 중 하나이며, 유형 I (또는 즉각적인) 과민증이라 칭명된다. 그것은 IgE로서 공지된 항체의 유형에 의해 비만 세포 및 호염기구로서 칭명되는 특정 백혈구의 과도한 활성화로 극한의 염증 반응을 초래함을 특징으로 한다. 통상의 알레르기 반응은 습진, 두드러기, 건초 열, 천식, 식품 알레르기, 및 말벌 및 꿀벌과 같은 찌르는 곤충의 독에 대한 반응을 포함한다.
- [2159] 본원에 사용된 용어 "**단일유전자 질환**"은 다음 유전자 중에서 선택된 단일 유전자의 돌연변이로부터 생성되는 질환을 지칭한다:
- [2160] (i) 면역 기능과 관련되지 않지만, 이의 결핍이 염증 및/또는 면역 반응과 관련되는 유전자, 예를 들어, 다음 질환에서 결핍된 유전자: 뒤센형 근이영양증(Duchenne muscular dystrophy; DMD), 낭성 섬유증(cystic fibrosis), 리소좀 질환(lysosomal diseases) 및 α 1-항-트립신 결핍; 및
- [2161] (ii) 면역계에 관련되고 이의 결핍이 염증 및/또는 자가 면역 반응을 생성하는 유전자, 예를 들어, 다음 질환에서 결핍된 유전자: T 세포 원발성 면역결핍, 예를 들어, IPEX(면역 조절 장애 다발성 내분비병증 장질환 X-연관 증후군(immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome)), APECED(자가 면역 다발성 내분비병증-칸디다증-외배엽 이영양증(polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy)), B 세포 원발성 면역결핍, 머크-웰스 증후군(Muckle-Wells syndrome), 혼합된 자가 염증성 및 자기 면역 증후군, NLRP12-관련 유전성 주기적 발열 증후군 및 중양 괴사 인자 수용체 1 관련 주기적 증후군.
- [2162] 바람직한 구현예에서, 자가 면역 질환은 APECED(자가 면역 다발성 내분비병증-칸디다증-외배엽 이영양증)이다.

- [2163] 바람직한 구현예에서, 자가 면역 질환은 뒤센형 근이영양증(DMD)이다.
- [2164] 본원에 사용된 용어 "**림프종 또는 암**"은 CD45RC⁺ 세포와 관련된 림프종 또는 암을 포함한다. CD45RC⁺ 세포와 관련된 예시적인 림프종 또는 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 만성 골수성 백혈병(CML), 골수이형성 증후군(MDS)/골수증식성 증후군, 림프종(예: 호지킨 및 비호지킨 림프종), 만성 림프성 백혈병(CLL) 및 다발성 골수종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [2165] 따라서, 본 발명은 이를 필요로 하는 대상체에서 CD45RC⁺ 세포를 고갈시키고, 이로써 조절 T 세포, 바람직하게는 Foxp3⁺ 및/또는 CD45RC⁺ Treg를 확장하고/하거나 강화시키고, 이에 의해 이식 거부를 예방하고/하거나 감소시키거나; 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물을 투여하여 hCD45RC⁺-관련 질환, 장애 또는 상태를 예방하고, 감소시키고/시키거나 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [2166] 바람직한 구현예에서, hCD45RC⁺-관련 질환, 장애 또는 상태는 전신 홍반성 낭창, 염증성 장 질환(크론병 및 궤양성 대장염 포함), APECED(자가 면역 다발성 내분비병증-칸디다증-외배엽 이영양증) 또는 뒤센형 근이영양증(DMD)이다.
- [2167] 바람직한 구현예에서, hCD45RC⁺-관련 질환, 장애 또는 상태는 전신 홍반성 낭창, 염증성 장 질환(크론병 및 궤양성 대장염 포함) 또는 APECED(자가 면역 다발성 내분비병증-칸디다증-외배엽 이영양증)이다.
- [2168] 그것은 또한 이를 필요로 하는 대상체에서 hCD45RC⁺ 세포를 고갈시키고, 이에 의해 조절 T 세포, 바람직하게는 Foxp3⁺ 및/또는 CD45RC⁺ Treg를 확장하고/하거나 강화시키고, 이에 의해 이식 거부를 예방하고/하거나 감소시키거나; hCD45RC⁺-관련 질환, 장애 또는 상태를 예방하고, 감소시키고/시키거나 치료하는 데 사용하기 위한 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [2169] 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포는 단독으로 또는 본원에 기재된 약제학적 조성물로서(예: 희석제 및/또는, 제한 없이, IL-2 또는 다른 사이토카인 또는 세포 집단을 포함하는 다른 성분과 조합하여) 투여될 수 있다.
- [2170] 본 발명의 약제학적 조성물은 에어로졸 흡입, 주사, 섭취, 수혈, 이식 또는 이식을 포함하는 임의의 적합한 방식으로 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 약제학적 조성물은 비경구 투여에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 약제학적 조성물은 피하, 피내, 종양내, 결절내, 골수내, 근육내, 흉골내, 정맥내(i.v.) 주사에 의해, 주입 기술에 의해 또는 복강내로 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 CAR-변형된 면역 세포 조성물은 피내 또는 피하 주사에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR-변형된 면역 세포 조성물은 i.v. 주사에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, CAR-변형된 면역 세포의 조성물은 림프절, 감염 부위, 염증 부위 또는 조직 또는 기관 거부 부위에 직접 주사될 수 있다. 일부 구현예에서, CAR-변형된 면역 세포의 조성물은 자가 면역 및/또는 염증성 질환 부위에 직접 주사될 수 있다.
- [2171] 일부 구현예에서, 대상체는 자가 세포와 함께 투여된다(또는 투여되어야 한다).
- [2172] 일부 구현예에서, 대상체는 동종 세포와 함께 투여된다(또는 투여되어야 한다).
- [2173] 일부 구현예에서, 대상체는 포유동물일 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 인간일 수 있다.
- [2174] 본 발명의 약제학적 조성물은 예방 또는 치료하고자 하는 질환에 적합한 방식으로 투여될 수 있다. 투여량 및 투여 빈도는 대상체의 상태 및 대상체의 질환의 유형 및 중증도와 같은 요인들에 의해 결정될 것이지만, 적절한 용량은 임상 시험에 의해 결정될 수 있다.
- [2175] "유효량" 또는 "치료량"이 지시되는 경우, 투여되는 본 발명의 조성물의 정확한 양은 대상체의 연령, 체중, 항체 역가 및 상태에서의 개인차를 고려하여 결정될 수 있다. 일반적으로, 본원에 기재된 바와 같은 CAR-조작된 면역 세포를 포함하는 약제학적 조성물은 적어도 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 또는 1×10^9 세포/kg 체중 또는 1×10^5 내지 100×10^5 세포/kg 체중의 용량으로 투여될 수 있으며, 해당 범위 내의 모든 정수 값을 포함한다고 언급될 수 있다. CAR-조작된 면역 세포 조성물은 또한 임의의 이들 용량 또는 이들의 임의의 조합에서 여러 번 투여될 수 있다. CAR-조작된 면역 세포는 면역요법에서 통상적으로 공지되어 있는 주입 기술을 사용하여 투여될 수 있다. 특정 대상체에 대한 최적의 용량 및 치료 섭생은

질환의 징후에 대해 대상체를 모니터링하고 그에 따라 치료를 조정함으로써 용이하게 결정될 수 있다.

- [2176] 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 CAR을 발현하는 단리된 면역 세포 집단, 조성물 또는 약제학적 조성물은 치료 약물 전에, 이와 동시에 또는 후에 투여되어야 한다.
- [2177] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포는 면역억제제, 세포 독소, 화학요법제, 사이토카인, 면역 자극제, 용해 펩티드 및 방사성 동위 원소와 같은 제제에 의한 치료를 포함하지만, 이제 제한되지 않는 임의의 수의 관련 치료 양식과 함께(예: 전에, 동시에 또는 이후에) 대상체에게 투여될 수 있다.
- [2178] 본원에 인용된 것들 중에서 선택될 수 있지만, 이에 제한되지 않는 특정 치료 약물과 본 발명에 따르는 CAR을 발현하는 단리된 T-세포 집단, 조성물, 약제학적 조성물의 공동-투여는 예방되고/되거나 치료될 질환 또는 상태에 의존할 것임이 당업자에게 의해 이해될 것이다.
- [2179] 면역억제제의 예는, 제한 없이, mTOR 억제제, 예를 들어, 시롤리무스, 에베롤리무스, 리다포롤리무스, 템시롤리무스, 우미롤리무스 및 조타롤리무스; IL-1 수용체 길항제, 예를 들어, 아나킨라; 항대사물질, 예를 들어, 아자티오프린, 레플루노미드, 메토타렉세이트, 미코페놀산 및 테리플루노미드; IMiD, 예를 들어, 아프레밀라스트, 레날리도마이드, 포말리도마이드 및 탈리도마이드; 및 항체, 예를 들어, 에쿨리주맙, 아달리무맙, 아벨리모맙, 세르톨리주맙 페골, 골리무맙, 인플릭시맙, 네렐리모맙, 메폴리주맙, 오말리주맙, 파랄리모맙, 엘실리모맙, 레브리키주맙, 우스테키누맙, 세쿠키누맙, 무로모넵-CD3, 오텔릭시주맙, 테폴리주맙, 비실리주맙, 클레눌릭시맙, 켈릭시맙, 자놀리무맙, 에팔리주맙, 에틀리주맙, 오비누투주맙, 리톡시맙, 오크렐리주맙, 파스콜리주맙, 고밀릭시맙, 루밀릭시맙, 테넬릭시맙, 토랄리주맙, 아셀리주맙, 갈릭시맙, 가빌리모맙, 루플리주맙, 벨리무맙, 블리시비모드, 이필리무맙, 트레멜리무맙, 베르틸리무맙, 레르텔리무맙, 메텔리무맙, 나탈리주맙, 토실리주맙, 오둘리모맙, 바실릭시맙, 다클리주맙, 이놀리모맙, 줄리모맙 아리톡스, 아토롤리무맙, 세텔리주맙, 폰톨리주맙, 마슬리모맙, 모롤리무맙, 펙셀리주맙, 레슬리주맙, 로벨리주맙, 시플리주맙, 탈리주맙, 텔리모맙 아리톡스, 바팔릭시맙, 베팔리모맙, 아바타셉트, 벨라타셉트, 에타네르셉트, 페그수네르셉트, 아플리베르셉트, 알레파셉트 및 릴로나셉트를 포함한다.
- [2180] 세포 독소의 예는, 제한 없이, 방사성 핵종(예: ^{35}S , ^{14}C , ^{32}P , ^{125}I , ^{131}I , ^{90}Y , ^{89}Zr , ^{201}Tl , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{57}Cu , ^{213}Bi , 및 ^{211}At), 집합된 방사성 핵종, 및 화학요법제를 포함한다. 세포 독소의 추가의 예는 항대사물질(예: 5-플루오로우라실(5-FU), 메토타렉세이트(MTX), 플루다라빈 등), 항미소관제(예: 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜치신, 탁산(예: 파클리탁셀 및 도세탁셀) 등), 알킬화제(예: 사이클로파스파미드, 멜팔란, 비스클로로에틸니트로소우레아(BCNU) 등), 백금 제제(예: 시스플라틴(또한, cDDP로 칭명됨), 카보플라틴, 옥살리플라틴, JM-216, CI-973 등), 안트라사이클린(예: 독소루비신, 다우노루비신 등), 항생제(예: 미토마이신-C), 토포아이스머라제 억제제(예: 에토포사이드, 테노포사이드 및 캄프토테신) 또는 다른 세포 독성제, 예를 들어, 리신, 디프테리아 독소(DT), 슈도모나스 외독소(PE) A, PE40, 아브린, 사포린, 미국자리공 바이러스 단백질, 브롬화에티듐, 글루코코르티코이드, 탄저병 독소 및 기타를 포함한다.
- [2181] 화학요법제의 예는, 제한 없이, 백금 배위 화합물(예: 예를 들어, 시스플라틴, 카보플라틴 또는 옥살리플라틴); 탁산 화합물(예: 예를 들어, 파클리탁셀 또는 도세탁셀); 토포아이스머라제 I 억제제(예: 예를 들어, 이리노테칸 또는 토포테칸); 토포아이스머라제 II 억제제(예: 예를 들어, 에토포사이드 또는 테니포사이드); 빈카 알칼로이드(예: 예를 들어, 빈블라스틴, 빈크리스틴 또는 비노렐빈); 항종양 뉴클레오사이드 유도체(예: 예를 들어, 5-플루오로우라실, 젬시타빈 또는 카페시타빈); 알킬화제(예: 예를 들어, 질소 머스타드 또는 니트로소우레아, 사이클로포스파미드, 클로람부실, 카르무스틴 또는 로무스틴; 항종양 안트라사이클린 유도체(예: 예를 들어, 다우노루비신, 독소루비신, 아이다루비신 또는 미토크산트론); 항-HER2 항체(예: 예를 들어, 트라스투주맙); 에스트로겐 수용체 길항제 또는 선택적 에스트로겐 수용체 조절제(예: 예를 들어, 타목시펜, 토레미펜, 드롤록시펜, 파슬로텍스 또는 칼록시펜); 아로마타제 억제제(예: 예를 들어, 엑세메스탄, 아나스트로졸, 레트라졸 또는 보로졸); 분화제(예: 예를 들어, 레티노이드, 비타민 D 및 레티노산 대사 차단제[RAMBA], 예를 들어, 아큐탄); DNA 메틸 트랜스퍼라제 억제제(예: 예를 들어, 아자시티딘); 키나제 억제제(예: 예를 들어, 플라보페리돌, 이마티닙 메실레이트 또는 게피티닙); 파르네실트랜스퍼라제 억제제; 및 HDAC 억제제를 포함한다.
- [2182] 사이토카인의 예는, 제한 없이, 케모카인(예: 예를 들어, CCL1, CCL2/MCP1, CCL3/MIP1 α , CCL4/MIP1, CCL4/MIP1 β , CCL5/RANTES, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18/PARC/DCCK1/AMAC1/MIP4, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CXCL1/KC, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8/IL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13,

CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCL17, CX3CL1, XCL1 및 XCL2), 종양 괴사 인자(예: 예를 들어, TNFA, 림포톡신, TNFSF4, TNFSF5/CD40LG, TNFSF6, TNFSF7, TNFSF8, TNFSF9, TNFSF10, TNFSF11, TNFSF13, TNFSF13B 및 EDA) 및 인터류킨(예: 예를 들어, IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , IL-36Ra, IL-37, IL-38, IFN α , IFN β , IFN κ , IFN ω 및 GM-CSF)을 포함한다.

[2183] 면역 자극제의 예는, 제한 없이, 필그라스티ம், 페그필그라스티ம், 레노그라스티ம், 몰그라모스틴, 사르그라모스틴, 안세스틴, 알빈테르페론, 인터페론 알파, 페그인터페론 알파, 인터페론 베타, 페그인터페론 베타, 인터페론 감마, 알데스류킨, 오프렐베킨, 성장 호르몬, 이뮤노시아닌, 페가데마제, 프롤락틴, 타소네르민, 히스타민 디하이드로클로라이드, 폴리 ICLC, 비타민 D, 렌티난, 플레릭사포르, 로퀴니맥스, 미파무르티드, 글라티라머 아세테이트, 티모펜틴, 티모신 $\alpha 1$, 티물린, 폴리이노신산:폴리시티딜산, 피도티모드, 바실루스 칼메트-게랭(Bacillus Calmette-Guerin) 백신, 흑색종 백신 및 시폴류셀-T 백신을 포함한다.

[2184] 용해 펩티드의 예는, 제한 없이, 독소(예: 디프테리아 독소 또는 슈도모나스 외독소)를 포함한다.

[2185] 방사성 동위 원소의 예는, 제한 없이, 테크네튬(예: Tc-99 및 Tc-97), 칼륨(예: K-40), 루비듐(예: Rb-82), 요오드(예: I-123, I-124, I-125, I-129, I-131), 세슘(예: Cs-135, Cs-137), 코발트(예: Co-60), 팔라듐(예: Pd-103, Pd-107), 카드뮴(예: Cd-113), 스트론튬(예: Sr-89, Sr-90), 유로퓸(예: Eu-55), 주석(예: Sn-121, Sn-126), 인(예: P-32, P-33), 탈륨(예: Tl-201), 인듐(예: In-111), 갈륨(예: Ga-67, Ga-68), 이트륨(예: Y-90), 이리듐(예: Ir-192), 비스무트(예: Bi-213), 라듐(예: Ra-223, Ra-225), 및 루테튬(예: Ru-106)의 방사성 핵종을 포함한다.

[2186] 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포는 면역억제제 이전, 후 또는 동시에 대상체에게 투여될 수 있다.

[2187] 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포 및/또는 면역억제제(들)는 이식 후에 대상체에게 투여될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포 및/또는 면역억제제(들)는 이식 전에 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포 및/또는 면역억제제는 이식 수술 동안 대상체에게 투여될 수 있다.

[2188] 일부 구현예에서, 대상체에게 CAR-조작된 면역 세포의 투여는 일단 면역억제 요법이 개시되면 수행된다.

[2189] 일부 구현예에서, 상기 방법은, 예를 들어, 시간에 따른 이식 수용자를 모니터링하고, 적용 가능하다면, 상이한 면역억제 요법 체제에서 한 번 이상 수행된다.

[2190] 일부 구현예에서, 면역억제 요법은 이식 수용자가 이식에 대해 내성일 것으로 예측되는 경우 감소된다. 일부 구현예에서, 어떠한 면역억제 요법도 처방되지 않으며, 예를 들어, 이식 수용자가 이식에 대해 내성일 것으로 예측되는 경우, 면역억제 요법이 중단된다.

[2191] 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포는 이식 기관 또는 조직 거부반응의 진단 후 기관 또는 조직 거부반응의 증상이 가라앉을 때까지 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포 및 면역억제제(들) 둘 다의 투여량으로 투여될 수 있다.

[2192] 추가의 구현예에서, 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포 조성물은 골수 이식과 함께(이전, 동시에, 또는 이후에) 대상체에게 투여될 수 있다.

[2193] 일부 구현예에서, 본 발명의 CAR-조작된 면역 세포는 CD20, 예를 들어, 리톡시맙과 반응하는 제제와 같은 B 세포 절제 요법 다음에 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 대상체는 고용량 화학요법에 이어 말초 혈액 줄기 세포 이식으로 표준 치료를 받을 수 있다. 특정 구현예에서, 이식 후, 대상체는 본 발명의 확장된 CAR-조작된 면역 세포의 주입을 받을 수 있다. 특정 구현예에서, 확장된 CAR-조작된 면역 세포는 수술 전 또는 후에 투여될 수 있다.

[2194] 일부 구현예에서, 대상체(예: 인간)는 본 발명의 면역 세포 또는 집단의 초기 투여, 및 하나 이상의 후속 투여를 받고, 여기서 하나 이상의 후속 투여는 이전 투여 후 15일 미만, 예를 들어, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2일 후에 투여된다.

[2195] 일부 구현예에서, 본 발명의 면역 세포의 치료학적 유효량은 대상체에게 투여되거나 투여되어야 한다.

[2196] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여된 본 발명의 면역 세포 집단의 면역 세포의 수는 적어도 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 ,

10^6 , 10^7 , 10^8 또는 10^9 개 세포이다.

- [2197] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 본 발명의 면역 세포 집단의 면역 세포의 수는 약 10^2 내지 약 10^9 개, 약 10^3 내지 약 10^8 개, 약 10^4 내지 약 10^7 개, 또는 약 10^5 내지 약 10^6 개 세포의 범위이다.
- [2198] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 본 발명의 면역 세포 집단의 면역 세포의 수는 약 10^2 내지 약 10^9 개, 약 10^2 내지 10^8 개, 약 10^2 내지 10^7 개, 약 10^2 내지 10^6 개, 약 10^2 내지 10^5 개, 약 10^2 내지 10^4 개, 또는 약 10^2 내지 10^3 개 세포의 범위이다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여된 본 발명의 면역 집단의 면역 세포의 수는 약 10^2 , 약 10^3 , 약 10^4 , 약 10^5 , 약 10^6 , 약 10^7 , 약 10^8 , 또는 약 10^9 개 세포이다.
- [2199] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여된 본 발명의 면역 세포 집단의 면역 세포의 수는 적어도 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 또는 10^9 개 세포/체중 kg이다.
- [2200] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 본 발명의 면역 세포 집단의 면역 세포의 수는 약 10^2 내지 10^9 개 세포/kg 체중 또는 10^3 내지 10^8 개 세포/kg 체중의 범위이며, 이들 범위 내의 모든 정수 값을 포함한다.
- [2201] 일부 구현예에서, 대상체는 주당 본 발명의 면역 세포 집단의 하나 이상의 투여, 예를 들어, 대상체에게 주당 투여되는 본 발명의 면역 세포 집단의 2, 3, 또는 4회 투여를 받는다.
- [2202] 일부 구현예에서, 면역 세포 집단은 활성제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 구현예들에 따르면, 면역 세포 집단은 활성제의 투여 전, 투여와 동시에, 또는 투여 후에 투여된다.
- [2203] 일부 구현예에서, 본 발명의 활성화된 면역 세포를 대상체에게 투여한 다음, 후속적으로 혈액을 채취하고(또는 성분채집을 수행하고), 본 발명에 따라 면역 세포를 이로부터 활성화시키고, 이들 활성화된 및 확장된 면역 세포를 대상체에게 재주입하는 것이 바람직할 수 있다. 이 과정은 몇 주마다 여러 번 수행될 수 있다. 특정 구현예에서, 면역 세포는 10cc 내지 400cc의 혈액 채취로부터 활성화될 수 있다. 특정 구현예에서, 면역 세포는 20cc, 30cc, 40cc, 50cc, 60cc, 70cc, 80cc, 90cc, 또는 100cc의 혈액 채취로부터 활성화된다. 이론에 결부시키지 않고, 이 다중 혈액 채취/다중 재주입 프로토콜을 사용하면 면역 세포의 특정 집단을 선택하는 역할을 할 수 있다.
- [2204] 본원에 기재된 CAR, 세포 집단 및 조성물은 본원에 기재된 바와 같은 치료 방법에 사용될 수 있고, 본원에 기재된 바와 같은 약제로서 사용하기 위한 것일 수 있고, 본원에 기재된 바와 같은 치료에 사용하기 위한 것일 수 있고/있거나 본원에 기재된 바와 같은 치료를 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 것일 수 있다는 것이 이해된다.
- [2205] 본 명세서로부터 명백한 바와 같이, 본 발명의 CAR, 또는 상기 CAR에 포함된 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 상기 CAR을 발현하도록 조작된 면역 세포 집단은 다수의 이점을 제시한다.
- [2206] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR, 또는 상기 CAR에 포함되는 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 상기 CAR을 발현하도록 조작된 면역 세포 집단은 약 $5 \times 10^{-7} M$ 이하, 바람직하게는 약 $2.5 \times 10^{-7} M$ 이하, 약 $1 \times 10^{-7} M$ 이하, 약 $7.5 \times 10^{-8} M$ 이하, 약 $5 \times 10^{-8} M$ 이하, 약 $1 \times 10^{-8} M$ 이하의 평형 해리 상수(K_d)로 인간 CD45RC에 결합한다.
- [2207] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR, 또는 상기 CAR에 포함된 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 상기 CAR을 발현하도록 조작된 면역 세포 집단은 CD45RC^{hi} 세포에 대한 세포독성 활성을 갖는다.
- [2208] 하나의 구현예에서, 그의 표적 항원에 결합시, 본 발명의 CAR은 CAR-형질도입된 세포 활성화를 유도한다.
- [2209] 하나의 구현예에서, 그의 표적 항원에 결합시, 본 발명의 CAR은 CAR-형질도입된 T 세포 활성화를 유도한다. 하나의 구현예에서, 그의 표적 항원에 결합시, 본 발명의 CAR은 CAR-형질도입된 Treg 활성화를 유도한다. 하나의 구현예에서, 그의 표적 항원에 결합시, 본 발명의 CAR은 CAR-형질도입된 CD4⁺ Treg 활성화를 유도한다. 또 다른 구현예에서, 그의 표적 항원에 결합시, 본 발명의 CAR은 CAR-형질도입된 CD8⁺ Treg 활성화를 유도한다.

- [2210] 하나의 구현예에서, 본 발명의 상기 CAR을 발현하도록 조작된 면역 세포 집단은 표적 세포(예: CD45RC⁺ T 세포)에 대한 프로-아포토시스 활성을 갖는다.
- [2211] 하나의 구현예에서, 본 발명의 상기 CAR을 발현하도록 조작된 면역 세포 집단은 CD4⁺ Treg의 집단이고, 상기 CAR-형질도입된 CD4⁺ Treg는 표적 세포(예: CD45RC⁺ T 세포)에 대한 프로-아포토시스 활성을 갖는다. 하나의 구현예에서, 본 발명의 상기 CAR을 발현하도록 조작된 면역 세포 집단은 CD8⁺ Treg의 집단이고, 상기 CAR-형질도입된 CD8⁺ Treg는 표적 세포(예: CD45RC⁺ T 세포)에 대해 프로-아포토시스 활성을 갖는다.
- [2212] 하나의 구현예에서, 본 발명의 CAR, 또는 상기 CAR에 포함된 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 상기 CAR을 발현하도록 조작된 면역 세포 집단은 이식 거부(예: 피부 이식 거부) 및 GVHD를 감소시키거나 폐기한다.

도면의 간단한 설명

- [2213] **도 1a-e**는 인간 혈액에서 상이한 백혈구 유형 상에서 (ABIS-45RC에 의해 또는 시판되는 MT2 항체에 의해 검출된 바와 같은) CD45RC의 발현 수준을 도시한다. ABIS-45RC 또는 MT2에 의한 염색은 건강한 자원 봉사자의 총 혈액(EDTA)에서 상이한 세포 유형에서 실현되었다. 이어서, 적혈구를 세포측정기 분석(Navios, Beckman Coulter) 전에 용해시켰다(Versalyse, Beckman Coulter). 세포를 먼저 형태, 이중 세포 및 살아있는 세포 상에 게이팅했다. (**1a** 내지 **1c**) 상이한 백혈구 유형에 대해 분석된 3명의 건강한 자원 봉사자 중 한명의 ABIS-45RC 또는 MT2에 의해 검출된 CD45RC 발현의 대표적인 도트 플롯 분석. ABIS-45RC는 좌측 패널에 제시되고, MT2는 우측 패널에 제시된다. x-축은 지시된 바와 같은 백혈구의 각 유형에 대한 세포 계통 마커 표지화의 형광 강도를 나타내고; y-축은 항-CD45RC 항체 표지화의 형광 강도를 나타낸다. 수평선은 상부 좌측 도트 플롯에서 지시된 바와 같은 CD45RC 발현의 고, 중간/저 및 음성 수준을 갖는 세포를 규정하고, 숫자는 각 카테고리에서 세포의 백분율을 나타낸다. (**1d** 및 **1e**) ABIS-45RC(**1d**) 또는 MT2(**1e**)로 표지된 3명의 공여자의 상이한 백혈구 유형 상의 CD45RC⁺, CD45RC⁺ 및 CD45RC⁻의 평균 발현 $\pm$ SEM.

도 2는 ABIS-45RC와 상업적 항-CD45RC MT2 항체는 모두 동일한 에피토프에 대해 경쟁한다는 것을 보여준다. PBMC는 건강한 자원 봉사자의 혈액으로부터 분리되었고, T 세포는 키메라 ABIS-45RC(지시된 농도로) 및 1.33mg/mL에서 표지된 항-CD45RC(마우스 클론 MT2)-FITC와 함께 항-CD3 표지된 mAb로 표지되었다. ABIS-45RC 반응성은 비오틴 당나귀 항-인간 IgG + Strepta PerCP-Cy 5.5 2차 항체를 사용하여 나타났다. 상부 열의 도트 플롯의 윈도우에서 숫자는 두 항체에 의해 공동 표지된 세포의 백분율을 나타낸다.

도 3a-f는 ABIS-45RC에 의해 유도된 세포독성이 상업적 항-CD45RC MT2와 비교하여 더 높다는 것을 보여준다. 건강한 자원 봉사자(n=3)의 PBMC를 37°C에서 배지, 아이소타입 음성 대조군(2.5 또는 10mg/mL), ABIS-CD45RC(2.5 또는 10mg/mL) 또는 양성 대조군으로서 텍사메타손(10mg/mL)과 함께 지시된 시점 동안 배양한 다음, 세포를 아넥신-V-PE로 표지화하여 항-CD3-FITC 마우스 항체 및 아포토시스 세포로 표지화했다. (**a-e**) 그래프는 지시된 세포 집단에서 아넥신 V⁺ 세포의 %를 나타낸다. (**f**) 아넥신 V⁺(초기 아포토시스) 및 DAPI⁺(후기 아포토시스) 세포의 대표적인 도트 플롯. 숫자는 각 카테고리에서 세포의 백분율을 표시한다.

도 4a-c는 면역 인간화 NSG 면역결핍 마우스에서 GVHD를 치료하기 위해 ABIS-45RC의 사용을 도시한다. (**a**) 건강한 공여자 자원 봉사자의 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)가 이미(-1일째) 아치사적으로(2Gy) 조사된 NSG 면역결핍 마우스에게 정맥내(iv) 주입되었음(0일째)을 보여주는 실험 절차. ABIS-45RC는 0 내지 20일째 사이에 표시된 프로토콜로 복강내(ip) 투여했다. 아이소타입 대조군은 인간 IgG(IVIg 제제)였고, ABIS-45RC와 동일한 프로토콜을 사용하여 투여했다. (**b-c**) NSG 마우스에 대한 생존 곡선 및 통계는 카플란-마이어 분석(Kaplan-Meier analysis)(* p<0.01, ** p<0.001)을 사용하여 분석했다.

도 5a-j는 2개의 농도(좌측 패널에서 2 μ g/mL, 우측 패널에서 1 μ g/mL)에서 인간화된 ABIS-45RC 항체 변이체 및 무린 ABIS-45RC 항체의 인간 T 세포에 대한 반응성을 나타내는 유세포 측정법 도트 플롯의 조합이다. (a) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 A; (b) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 B; (c) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 C; (d) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 D; (e) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 E; (f) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 F; (g) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 G; (h) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 H; (i) 인간화된 ABIS-45RC 변이체 I; (j) 무린 ABIS-45RC.

도 6은 ABIS-45RC(좌측 패널) 및 조작된 Asn/Phe ABIS-45RC(우측 패널) 모두가 인간 T 세포에 대한 동등한 패

턴의 반응성을 갖는다는 것을 보여주는 유세포 계측법의 2개의 도트 플롯을 도시한다.

도 7a-c는 3명의 건강한 자원 봉사자의 인간 혈액에서 $CD3^+$ 백혈구 상의 CD45RC의 발현 수준을 도시한다. 세포를 먼저 형태, 이중선 세포 및 살아있는 세포 상에 게이팅했다. (a) 분석된 3명의 건강한 자원 봉사자 중 한명으로부터 뮤린 ABIS-45RC에 의해 검출된 CD45RC 발현의 대표적인 도트 플롯 분석; (b) 분석된 3명의 건강한 자원 봉사자 중 한명으로부터 인간화된 ABIS-45RC 변이체 A1에 의해 검출된 CD45RC 발현의 대표적인 도트 플롯 분석; (c) 분석된 3명의 건강한 자원 봉사자 중 한명으로부터 인간화된 ABIS-45RC 변이체 A3에 의해 검출된 CD45RC 발현의 대표적인 도트 플롯 분석. x-축은 FSC를 나타내고; y-축은 항-CD45RC 항체 표지화의 형광 강도를 나타낸다. 정사각형은 지시된 바와 같은 CD45RC 발현의 고, 중간/저 및 음성 수준의 세포를 규정하고, 숫자는 각 카테고리에서 세포의 백분율을 나타낸다.

도 8a-b는 ABIS-45RC에 의해 또는 인간화된 변이체 A1 및 A3에 의해 유도된 아포토시스가 필적할 만하다는 것을 보여준다. 건강한 자원 봉사자의 PBMC를 지시된 시점 동안 37°C 에서 아이소타입 음성 대조군($10\mu\text{g/mL}$), 뮤린 ABIS-CD45RC($10\mu\text{g/mL}$), 인간화 변이체 A1($10\mu\text{g/mL}$) 및 인간화 변이체 A3($10\mu\text{g/mL}$)과 함께 배양한 다음, 세포를 아넥신-V-PE로 표지화함으로써 항-CD3 및 항-CD45RA 항체 및 아포토시스 세포로 표지화했다. 그래프는 아이소타입 대조군 조건과 비교하여 $CD3^+CD45RA^{hi}$ 세포(a) 및 $CD3^-$ 세포(b)에서 중첩 아포토시스를 표시한다.

도 9는 항-인간 CD45RC 치료로 처리된 인간화 마우스의 피부 이식편 생존을 보여준다. 인간 피부 거부반응을 유도하기 위해 전체 인간 PBMC로 전이된 NSG 마우스는 라파마이신(Rapa)과 함께, 뮤린 ABIS-45RC 또는 인간화된 변이체 A1로 처리되었다. 결과는 피부 이식편 생존 스코어로 표현된다.

도 10은 CAR 구조 및 CD45RC-CAR의 예시적인 구조의 개략도를 도시한다. CAR은 세포의 도메인(예: scFv CD45RC), 임의로 힌지 도메인(예: CD8a로부터 유래됨), 막관통(TM) 도메인(예: CD8로부터 유래됨), 공동자극 세포내 도메인(예: CD28로부터 유래됨) 및 1차 신호전달 도메인(예: $CD3\zeta$ 로부터 유래됨)을 포함한다. 동일한 플라스미드에서, GFP 코딩 서열은 임의로 T2A 자가-스플라이싱 서열(도시되지 않음)에 의해 그들로부터 분리된 CD45RC-CAR 서열의 3' 바로 옆에 존재할 수 있다. 따라서, GFP는 CAR-CD45RC 발현의 대리 마커로서 사용될 수 있다.

도 11은 CD45RC-CAR 및 GFP를 인코딩하는 플라스미드로 형질감염된 HEK(인간 배아 신장 293 세포) 세포가 형질감염 3일 후에 GFP를 발현한다는 것을 도시한다(왼쪽 패널). 형질감염의 양성 대조군으로서, HEK 세포를 GFP만을 인코딩하는 플라스미드로 형질감염시켰다(오른쪽 패널).

도 12는 Jurkat 세포가 형질도입되지 않은 Jurkat 세포와 비교하여 배양 6일 후에 CD45RC-CAR 및 GFP를 인코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입될 수 있음을 도시한다.

도 13은 Jurkat 세포가 형질도입된 CD45RC-CAR(단백질 L 염색에 의해 나타낸 바와 같이)을 세포 표면에서 발현되었고 CAR의 발현이 GFP의 발현과 상관관계가 있음을 도시한다.

도 14는 CD45RC-CAR 렌티바이러스 벡터로 형질도입된 Jurkat 세포가 인간 T 세포에서 아포토시스를 유도할 수 있음을 도시한다. 인간 T 세포를 CD45RC-CAR 또는 Ctrl-CAR(상이한 항원 특이성을 갖는 대조군 CAR)로 형질도입된 Jurkat 세포와 함께 상이한 세포 비율 조건에서 배양하였다. 아포토시스는 배양 18h 후에 유세포 계측법에 의해 평가되었다. CAR을 생성하는데 사용된 항-CD45RC 모노클로날 항체(키메라 인간 IgG1)를 양성 대조군으로서, 인간 비반응성 IgG1을 아이소타입 대조군으로서 사용하였고, 이 검정에서 비발현된 표적을 인식하는 CAR을 발현하는 Ctrl-CAR Jurkat 및 비형질도입된 Jurkat 세포는 음성 대조군으로 사용하였다.

도 15는 CD45RC-CAR 렌티바이러스 벡터로 형질도입된 Jurkat 세포가 인간 T 세포와 접촉한 후에 활성화될 수 있음을 도시한다. 인간 T 세포를 CD45RC-CAR (GFP의 발현에 기초하여 분류되거나 분류되지 않음) 또는 Ctrl-CAR로 형질도입된 Jurkat 세포와 함께 상이한 세포 비율 조건에서 배양하였다. T 세포 활성화의 마커인 CD69의 평균 형광 강도(MFI)를 배양 18h 후에 유세포 계측법에 의해 평가하였다. 분류되거나 분류되지 않은 Ctrl-CAR Jurkat 및 비-형질도입된 Jurkat을 음성 대조군으로 사용하였다.

도 16은 CD45RC 표적에 대한 CD45RC-CAR 결합을 묘사한다. HEK 293T는 형질도입되지 않거나 CD45RC-CAR 렌티바이러스 벡터로 형질도입되었고, 5일 동안 배양하였다. 이어서, 세포를 비오티닐화된 CD45R-ABC 단백질과 함께 배양한 다음, 스트렙타비딘-APC-Cy7로 염색하고 유세포 계측법으로 분석하였다.

도 17A-B는 CD45RC-CAR 렌티바이러스 벡터로 형질도입된 $CD4^+$ Treg의 확장을 도시한다. $CD4^+$ Treg를 0일째와

1일째 사이에 활성화시킨 다음, 1일째 및 2일째에 CD45RC-CAR로 2회 형질도입하였다. GFP+ 세포를 7일째에 분류하였다. CD45RC-CAR CD4+ Treg는 확장 7일 또는 14일 후에 GFP 발현에 대해 분석하였다: (A) 7일째 및 14일째에 CD45RC-CAR 형질도입된 CD4+ Treg에서 GFP 발현의 대표적인 히스토그램 및 도트 플롯; (B) 7일째 및 14일째에 CD45RC-CAR을 발현하는 세포의 백분율.

도 18은 CD45RC-CAR CD4+ Treg가 CAR을 통해 특이적으로 활성화된다는 것을 도시한다. 14일 동안 확장된 CD45RC-CAR CD4+ Treg 및 Ctrl-CAR CD4+ Treg를 코팅된 CD45R-ABC 단백질과 함께 24h 동안 마지막 4시간 동안 브레펠딘 A의 존재하에 배양한 다음, 활성화 마커에 대해 유세포 측정법에 의해 분석하였다. 각 마커의 MFI는 자극되지 않은 세포에 대한 비율로서 표현된다.

도 19A-C는 CD45RC-CAR CD4+ Treg가 아포토시스를 통해 CD45RC^{hi} T 세포의 세포사를 유도한다는 것을 도시한다. 아포토시스는 CD45RC-CAR(60% GFP+ 형질도입된 세포의 평균), Ctrl-CAR(> 90% LNGFR+ 형질도입된 세포) 또는 비-형질도입된 CD4+ Treg 뿐만 아니라 항-CD45RC mAb(10 µg/mL에서 ABIS-45RC)로 형질도입된 동종 이계 CD4+ Treg의 상이한 비율로 4h 배양된 PBMC에서 분석되었고, 이어서 아넥신 V 및 DAPI로 염색하였다. 결과는 (A) T 세포, (B) CD45RC^{hi/neg} T 세포, (C) CD45RC^{hi} T 세포 중 아넥신 V⁺ 세포의 상대적 비율로 표현된다. 회색 다이아몬드 형상의 단리된 점은 항-CD45RC mAb의 존재하에서의 아포토시스를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

실시예

본 발명은 다음 실시예에 의해 추가로 예시된다.

실시예 전반에 걸쳐, 다음 명명법이 적용된다:

"ABIS-45RC": 다음을 포함하는 본 발명의 무린 항-hCD45RC 항체:

- 서열번호 61의 중쇄 가변 영역;
- 서열번호 93의 중쇄 불변 영역;
- 서열번호 81의 경쇄 가변 영역; 및
- 서열번호 94의 경쇄 불변 영역.

"항-45RC 변이체 A": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

- 서열번호 62의 중쇄 가변 영역;
- 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- 서열번호 82의 경쇄 가변 영역; 및
- 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

"항-45RC 변이체 B": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

- 서열번호 62의 중쇄 가변 영역;
- 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- 서열번호 83의 경쇄 가변 영역; 및
- 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

"항-45RC 변이체 C": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

- 서열번호 62의 중쇄 가변 영역;
- 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- 서열번호 84의 경쇄 가변 영역; 및
- 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

[2237] "항-45RC 변이체 D": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

[2238] - 서열번호 63의 중쇄 가변 영역;

[2239] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;

[2240] - 서열번호 82의 경쇄 가변 영역; 및

[2241] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

[2242] "항-45RC 변이체 E": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

[2243] - 서열번호 63의 중쇄 가변 영역;

[2244] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;

[2245] - 서열번호 83의 경쇄 가변 영역; 및

[2246] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

[2247] "항-45RC 변이체 F": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

[2248] - 서열번호 63의 중쇄 가변 영역;

[2249] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;

[2250] - 서열번호 84의 경쇄 가변 영역; 및

[2251] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

[2252] "항-45RC 변이체 G": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

[2253] - 서열번호 64의 중쇄 가변 영역;

[2254] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;

[2255] - 서열번호 83의 경쇄 가변 영역; 및

[2256] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

[2257] "항-45RC 변이체 H": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

[2258] - 서열번호 64의 중쇄 가변 영역;

[2259] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;

[2260] - 서열번호 84의 경쇄 가변 영역; 및

[2261] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

[2262] "항-45RC 변이체 I": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

[2263] - 서열번호 64의 중쇄 가변 영역;

[2264] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;

[2265] - 서열번호 82의 경쇄 가변 영역; 및

[2266] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

[2267] "항-45RC 변이체 A1": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

[2268] - 서열번호 101의 중쇄 가변 영역;

[2269] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;

[2270] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및

[2271] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.

[2272] "항-45RC 변이체 A2": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:

- [2273] - 서열번호 101의 중쇄 가변 영역;
- [2274] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2275] - 서열번호 103의 경쇄 가변 영역; 및
- [2276] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2277] "항-45RC 변이체 A3": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2278] - 서열번호 65의 중쇄 가변 영역;
- [2279] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2280] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및
- [2281] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2282] "항-45RC 변이체 A4": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2283] - 서열번호 65의 중쇄 가변 영역;
- [2284] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2285] - 서열번호 103의 경쇄 가변 영역; 및
- [2286] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2287] "항-45RC 변이체 A5": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2288] - 서열번호 62의 중쇄 가변 영역;
- [2289] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2290] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및
- [2291] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2292] "항-45RC 변이체 A6": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2293] - 서열번호 101의 중쇄 가변 영역;
- [2294] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2295] - 서열번호 82의 경쇄 가변 영역; 및
- [2296] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2297] "항-45RC 변이체 A7": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2298] - 서열번호 121의 중쇄 가변 영역;
- [2299] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2300] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및
- [2301] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2302] "항-45RC 변이체 A8": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2303] - 서열번호 122의 중쇄 가변 영역;
- [2304] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2305] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및
- [2306] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2307] "항-45RC 변이체 A9": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2308] - 서열번호 123의 중쇄 가변 영역;

- [2309] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2310] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및
- [2311] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2312] "**항-45RC 변이체 A10**": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2313] - 서열번호 124의 중쇄 가변 영역;
- [2314] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2315] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및
- [2316] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2317] "**항-45RC 변이체 D1**": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2318] - 서열번호 63의 중쇄 가변 영역;
- [2319] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2320] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및
- [2321] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2322] "**항-45RC 변이체 I1**": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2323] - 서열번호 67의 중쇄 가변 영역;
- [2324] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2325] - 서열번호 85의 경쇄 가변 영역; 및
- [2326] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2327] "**항-45RC 변이체 I2**": 다음을 포함하는 ABIS-45RC의 인간화된 변이체:
- [2328] - 서열번호 67의 중쇄 가변 영역;
- [2329] - 서열번호 91의 중쇄 불변 영역;
- [2330] - 서열번호 103의 경쇄 가변 영역; 및
- [2331] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2332] "**MT2**": Ref. AM39022PU-N하에 OriGene에서 시판되는 무린 항-hCD45RC 항체.
- [2333] "**조작된 Asn/Phe ABIS-45RC**": CDR1에 하나의 잔기의 삽입 및 FR3에서 하나의 잔기의 치환(실시예 8에 기재된 바와 같이)에 의해 이의 LCVR을 조작함으로써 키메라화된 무린 ABIS-45RC. 조작된 Asn/Phe ABIS-45RC는 다음을 포함한다:
- [2334] - 서열번호 61의 중쇄 가변 영역;
- [2335] - 서열번호 93의 중쇄 불변 영역;
- [2336] - 서열번호 71의 경쇄 가변 영역(여기서, X_{12} 는 Asn(N)이다); 및
- [2337] - 서열번호 94의 경쇄 불변 영역.
- [2338] "**조작된 Ser/Phe ABIS-45RC**": CDR1에 하나의 잔기의 삽입 및 FR3에서 하나의 잔기의 치환(실시예 8에 기재된 바와 같이)에 의해 이의 LCVR을 조작함으로써 키메라화된 무린 ABIS-45RC. 조작된 Ser/Phe ABIS-45RC는 다음을 포함한다:
- [2339] - 서열번호 61의 중쇄 가변 영역;
- [2340] - 서열번호 93의 중쇄 불변 영역;

- [2341] - 서열번호 71의 경쇄 가변 영역(여기서, X_{12} 는 Ser (S)이다); 및
- [2342] - 서열번호 94의 경쇄 불변 영역.
- [2343] "조작된 Gly/Phe ABIS-45RC": CDR1에 하나의 잔기의 삽입 및 FR3에서 하나의 잔기의 치환(실시예 8에 기재된 바와 같이)에 의해 이의 LCVR을 조작함으로써 키메라화된 뮤린 ABIS-45RC. 조작된 Gly/Phe ABIS-45RC는 다음을 포함한다:
- [2344] - 서열번호 61의 중쇄 가변 영역;
- [2345] - 서열번호 93의 중쇄 불변 영역;
- [2346] - 서열번호 71의 경쇄 가변 영역(여기서, X_{12} 는 Gly (G)이다); 및
- [2347] - 서열번호 94의 경쇄 불변 영역.
- [2348] "키메라 N50A ABIS-45RC": 뮤린 ABIS-45RC 중쇄 및 인간화된 경쇄를 포함하는 뮤린 ABIS-45RC의 키메라 변이체. 키메라 N50A ABIS-45RC는 다음을 포함한다:
- [2349] - 서열번호 61의 중쇄 가변 영역;
- [2350] - 서열번호 93의 중쇄 불변 영역;
- [2351] - 서열번호 113의 경쇄 가변 영역; 및
- [2352] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2353] "키메라 S52A ABIS-45RC": 뮤린 ABIS-45RC 중쇄 및 인간화된 경쇄를 포함하는 뮤린 ABIS-45RC의 키메라 변이체. 키메라 S52A ABIS-45RC는 다음을 포함한다:
- [2354] - 서열번호 61의 중쇄 가변 영역;
- [2355] - 서열번호 93의 중쇄 불변 영역;
- [2356] - 서열번호 126의 경쇄 가변 영역; 및
- [2357] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2358] "키메라 N50X ABIS-45RC": 뮤린 ABIS-45RC 중쇄 및 인간화된 경쇄를 포함하는 뮤린 ABIS-45RC의 키메라 변이체. 키메라 N50X ABIS-45RC는 다음을 포함한다:
- [2359] - 서열번호 61의 중쇄 가변 영역;
- [2360] - 서열번호 93의 중쇄 불변 영역;
- [2361] - 서열번호 129의 경쇄 가변 영역(여기서, X_{13} 은 임의의 아미노산이지만, Ala (A) 또는 Asn (N)이다); 및
- [2362] - 서열번호 92의 경쇄 불변 영역.
- [2363] 실시예 1:
- [2364] **ABIS-45RC의 반응성**
- [2365] 재료 및 방법
- [2366] PBMC 염색 및 데이터 획득
- [2367] 50 μ L 또는 100 μ L의 신선한 EDTA 전혈은 적절한 모노클로날 항체(AB)의 조합에 이어, 적혈구 용해(versalyse, Beckman Coulter)로 염색했다. 세척 후, 세포는 Navios 유세포 계측기 상에서 분석하고, 데이터는 Kaluza 소프트웨어(Beckman Coulter, Marseille, France) 및 FlowJo 소프트웨어(Tree Star Inc)를 사용하여 분석했다.
- [2368] 항체 및 유세포 계측법

표 6

유세포 계측법 분석에 사용된 항체. 각 항체는 좌측 컬럼에,
사용된 클론은 우측 컬럼에 제시된다

항체 (특이성)	클론
CD117	104D2D1
CD11c	BU15
CD123	9F5
CD127	R34.34
CD14	RMO52
CD16	3G8
CD161	191B8
CD19	SJ25C1
CD25	2A3
CD3	SK7
CD3	UCHT1
CD336	Z231
CD4	13B8.2
CD45	J.33
CD56	N901
CD56	NCAM162
CD8	B9.11
CD8	SK1
카테일 ILCs	---
CRTH2	BM16

HLADR	L243
계통 1 DCs	---
TCRab	IP26A
TCRgd	IMMU510
Va24	6B11
Va7,2	REA179
CD45RC	MT2
CD45RC	ABIS
스트렙타비딘	Alexa fluor 405

결과

제1 스크리닝으로서, ABIS-45RC는 상업적 항-CD45RC mAb MT2 클론을 사용하여 분류된 CD45RC-세포에 대해 반응하지 않았고, ABIS-45RC가 CD45RC를 인식할 수 있음을 시사한다(데이터는 도시되지 않음).

ABIS-45RC를 추가로 특성화하기 위해, 본 발명자들은 인간 PBMC와 이의 반응성을 분석했다. 도 1a 및 b에 도시된 바와 같이, T CD4⁺ 및 T CD8⁺ 세포의 분획은 ABIS-45RC^{neg}인 반면, 나머지는 ABIS-45RC^{pos} 또는 ABIS-45RC^{int}이다. 대부분의 B 및 NK 세포뿐만 아니라 pDC는 ABIS-45RC^{pos}였다. 대부분의 NKT, iNKT MAIT, ILC2, ILC3 및 대부분의 CD14^{int} CD16⁺ 단핵구는 ABIS-45RC^{pos} 또는 ABIS-45RC^{int}였다. CD14^{pos} CD16⁻ 단핵구, mDC, 호염기구 및 호중구는 주로 ABIS-45RC^{int}였다. CD4⁺ Treg 및 CD8⁺ Foxp3⁺ Treg는 주로 ABIS-45RC^{int}였다.

주요 PBMC 집단의 분석은 ABIS-45RC가 상업적 항-CD45RC 마우스 MT2 항체에 필적할 만한 반응성 패턴을 가졌음을 보여주었다(도 1 및 Picarda *et al.*, 2017. *JCI Insight*. 2(3):e90088).

- [2376] **실시예 2:**
- [2377] **ABIS-45RC와 상업적 항-CD45RC 항체 "MT2"의 비교**
- [2378] 재료 및 방법
- [2379] PBMC 분리
- [2380] 혈액 건강한 자원 봉사자를 수집하고, 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC)는 과립구, 혈소판 및 리딩 적혈구 세포 오염물질과 같은 혈액 생성물의 불필요한 분획의 제거를 가능하게 하는 피콜(Ficoll) 구배 원심분리로 분리시켰다.
- [2381] 항체 및 유세포 계측법
- [2382] 인간 PBMC는 ABIS-45RC 항체(지시된 농도에서), 항-CD3 항체 및 1.33mg/mL에서 표지된 항-CD45RC(마우스 클론 MT2, Biolegend)-FITC로 표지화했다. ABIS-45RC 반응성은 비오틴 당나귀 항-인간 IgG⁺ 스트랩타비딘 PerCP-Cy 5.5 2차 항체를 사용하여 나타냈다.
- [2383] Canto II 세로측정기(BD Biosciences)를 사용하여 형광 강도를 측정하였고, 데이터는 FLOWJO 소프트웨어(Tree Star Inc.)를 사용하여 분석했다. 세포는 먼저 그들의 형태에 의해 게이팅하였고, 죽은 세포는 DAPI-음성 세포를 선택함으로써 배제시켰다.
- [2384] 세포독성 분석
- [2385] 인간 PBMC는 10분 내지 18시간 동안 2.5 또는 10 μ g/mL에서 37°C에서 배지, 아이소타입 대조군 항체(Ms IgG1, 클론 107.3, 10 μ g/mL), ABIS-45RC 또는 항-CD45RC(마우스 클론 MT2)와 함께 배양했다. 이어서, 세포를 항-CD3(클론 SK7, BD Biosciences), 아넥신-V, 및 DAPI로 염색했다. 아포토시스의 백분율은 유세포 계측법에 의해 T 또는 비-T 세포 사이에서 아넥신 V⁺ 및 DAPI⁺ 상에 게이팅함으로써 획득되었다.
- [2386] 결과
- [2387] ABIS-45RC 및 상업적 항-CD45RC MT2 항체는 모두 동일한 에피토프에 대해 경쟁한다
- [2388] 도 2에 도시된 바와 같이, 상업적 항-CD45RC MT2 클론과의 공동-표지화는 두 항체가 경쟁하였고, 따라서 인간 CD45RC의 동일한거나 근접한 에피토프를 인식했음을 보여주었다.
- [2389] ABIS-45RC에 의해 유도된 세포독성은 상업적 항-CD45RC와 비교하여 더 높다
- [2390] 도 3에 도시된 바와 같이, ABIS-45RC는 비-T 세포에 대해서가 아니라 T 세포에 대해 세포독성이었다. 더욱이, T 세포 세포독성은 CD45RC 발현 수준과 직접적으로 상관되었고, 중요하게는, ABIS-45RC는 10 μ g/mL에서 MT2 클론과 비교하여 2.5 μ g/mL에서 더 잘 수행되었다.
- [2391] **실시예 3:**
- [2392] **ABIS-45RC의 친화도**
- [2393] 재료 및 방법
- [2394] 간략하게, 플라스미드 형질감염 후 CD45RC를 발현하는 1x10⁷ CD45RC^{hi} PBMC 또는 CHO 세포를 Mem-PER 막 분리 키트(ThermoFisher)를 사용하여 가용화시켰다. ABIS-45RC는 바이오칩 CM5 상에 고정시키고, 세포 막을 25°C에서 배양하여 BIAcore 3000 및 BIAcore T200 상에서 단일 사이클 동역학 및 교정 유리 농도 분석을 사용하여 친화도 상수를 측정했다.
- [2395] 결과
- [2396] CD45RC 항체의 친화도의 측정은 항체 항원 상호 작용을 특성화하기 위한 기술인 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 평가하였고, 2.91x10⁵ M⁻¹.sec⁻¹의 K_{on} 및 1.44x10⁻² sec⁻¹의 K_{off}와 함께 5x10⁻⁸ M의 친화도(K_D)를 나타냈다.
- [2397] **실시예 4:**
- [2398] **ABIS-45RC에 의한 이식편-대-숙주 질환(GVHD)의 치료**

- [2399] 재료 및 방법
- [2400] PBMC 단리
- [2401] 혈액은 건강한 개인의 **Établissement Français du Sang (Nantes, France)**에서 수집하였다. 제도적 지침에 따라 서면 사전 동의가 제공되었다. PBMC는 피콜-파크(Ficoll-Paque) 밀도-구배 원심분리(Eurobio, Courtaboeuf, France)에 의해 단리시켰다. 나머지 적혈구 및 혈소판은 저장성 용액 및 원심분리로 제거되었다.
- [2402] 동물
- [2403] 8- 내지 12주령 NOD/SCID/IL2R $\gamma^{-/-}$ (NSG) 마우스는 SPF 조건(승인 번호 C44-278)에서 본 발명자 자신의 동물 시설에서 사육시켰다.
- [2404] GVHD 모델
- [2405] 성체 NSG 면역 결핍 마우스는 GVHD의 발달을 선호하는 조직에서 병변을 유도하기 위해 전신 아치사적으로(sublethaly) 조사했다(-1일째에 2Gy의 조사 선량). 다음 날(0일째), 건강한 자원 봉사자의 1.5×10^7 PBMC(CD45RC^고 및 CD45RC^{저/-} T 세포를 포함함)를 이러한 마우스에 정맥내 주입했다. 인간 PBMC, 특히 T 세포는 병변을 유도하는 마우스 조직에 대해 반응하고 공격한다. 간, 장, 폐 및 피부에서 관찰된 이러한 T 세포 및 병변은 공여자 및 수령자로서 설치류를 사용하는 인간 또는 다른 GVHD 실험 시스템에서 골수 이식 후 관찰된 GVHD를 모방한다. 특히, 이러한 조직 병변은 전형적으로 PBMC의 주사 후 약 13일째에 - 주입된 PBMC의 수 및 본 실험 시스템에 따라 - 시작하는 체중 감소를 유도한다. 체중 감소는 매일 모니터링되며, 불필요한 고통을 피하기 위해 원래 체중의 20%로 떨어지면 동물을 희생시킨다.
- [2406] 치료
- [2407] NSG 마우스를 0일째로부터 20일 동안 2.5일 마다 0.8mg/kg에서 정제된 ABIS-45RC, MT2 항-CD45RC 항체 또는 무관한 대조군(인간 정제된 IgG를 포함하고 주로 IgG1 항체를 함유하는 임상적으로 사용된 IVIg 제제)으로 복강내 처리했다.
- [2408] ABIS-45RC 또는 대조군 항체로 처리된 NSG 마우스는 0일째부터 10일째까지 0.4mg/일의 차선 투여량으로 라파마이신을 복강내 복용했다.
- [2409] 실험적 절차는 **도 4a**에 요약된다.
- [2410] 결과
- [2411] PBMC에 의한 치료는 **도 4**에 도시된 바와 같이 약 14일째에 개시된 체중 감소만을 유도했고, 33일까지 모든 마우스가 사망했다(평균 생존율: 11일(**도 4b**) 내지 15일(**도 4c**)).
- [2412] 대조군 항체 및 라파마이신에 의한 치료는 통계적 유의성에 도달하지 않고 생존만을 연장시켰다(평균 생존율: 21일(**도 4c**)).
- [2413] MT2에 의한 치료는 마우스의 생존을 상당히 연장시킨 반면(평균 생존율: 19일(**도 4b**)), ABIS-45RC에 의한 치료는 마우스의 이러한 생존 연장을 최대 72일까지 상당히 증가시켰다(평균 생존율: 35일(**도 4b**)).
- [2414] 마지막으로, 라파마이신과 ABIS-45RC의 조합 투여는 GVHD의 결과로서 사망을 완전히 방지했다(100% 생존, **도 4c**).
- [2415] 실시예 5:
- [2416] **ABIS-45RC의 인간화**
- [2417] CDR을 인간 생식세포계열 항체 서열로 그래프팅함으로써 ABIS-45RC의 인간화를 위한 설계가 착수되었다. ABIS-45RC는 LCVR로부터 3개의 CDR(서열번호 15, 16 및 17을 가짐)을 가능한 한 ABIS-45RC의 LCVR에 상동성인 인간 생식세포계열 LCVR로 그래프팅함으로써 인간화되었다. 유사하게, HCVR로부터 3개의 CDR(식별번호 1, 4 및 3을 가짐)을 가능한 한 ABIS-45RC의 HCVR에 상동성인 인간 생식세포계열 HCVR로 그래프팅했다.
- [2418] 또한, 선택된 인간 생식세포계열 가변 영역의 프레임워크 영역(FR) 중 몇몇 아미노산 잔기는 무린 가변 영역에

존재한 아미노산 잔기로 변경했다(소위 역-돌연변이). 번역글로볼린 가변 영역의 구조에 대한 정보에 기초하고 ABIS-45RC의 Fv의 상동성 분자 모델의 지침에 따라, FR 중 이러한 몇몇 잔기는 정확한 형태 또는 HCVR/LCVR 패킹으로 CDR을 유지시키는데 중추적인 역할을 하는 것으로 동정되었고, 따라서 그들은 제1 인간화된 버전(버전 A)으로 유지되거나, 가능한 경우, 후속적 인간화된 버전(버전 B 및 C)으로 그들의 인간 생식세포계열 대응물로 치환되었다. 상동성 분자 모델의 지침하에, 버전 B 및 C에서, 가능하다고 판단된 경우, CDR 잔기는 또한 그들의 인간 생식세포계열 대응물로 치환되었다.

[2419] 상동성 모델 구축

[2420] ABIS-45RC의 모델은 확립된 프로토콜에 따라 작제되었다(참조: Ramos, **2012**. *Methods Mol Biol.* **907**:39-55).

[2421] 경쇄

[2422] 이 섹션에서, 달리 특정되지 않는 한, 아미노산 넘버링은 서열번호 81에 기초한다.

[2423] LCVR의 프레임워크 잔기를 사용하여 단백질 BLAST를 통해 해독된 항체 구조의 서열을 검색했다. 상부 히트는 ABIS-45RC의 LCVR의 것들과 동일한 89개의 FR 잔기 중 83개, 유사한 89개의 FR 중 85개를 갖는 단백질 데이터뱅크(PDB) ID: 4NCC(2.50 Å 해상도), 및 ABIS-45RC의 LCVR의 것들과 동일한 87개 프레임워크 잔기 중 83개, 및 유사한 87개 중 84개를 갖는 PDB ID: 1QOK(2.40 Å 해상도)였다.

[2424] 이러한 2개의 구조의 서열은 모두 치환 T9A, T39P, R44K, N49S 및 P54A를 갖는 ABIS-45RC의 LCVR(서열번호 81을 가짐)의 서열과 상이했다. 또한, PDB ID: 4NCC는 치환 L95F, A99G 및 L105I를 갖는 ABIS-45RC의 LCVR과 서열이 상이했다.

[2425] 두 구조의 비교는 높은 상동성을 나타냈다. 그러나, 탄소 채는 영역 A13-E17 및 E104-K106에서 약간 상이한 형태를 채택했다.

[2426] 후속적 CDR 검색 결과 및 2개의 N-말단 잔기의 존재에 기초하여, PDB ID: 4NCC의 구조의 LCVR이 LCVR 프레임워크 주형으로서 선택되었고, L105I의 로타머 형태가 PDB ID: 1QOK를 참조하여 선택되었다(PyMol에서).

[2427] 후속적으로, 각 말단에 2개의 잔기를 첨가한 ABIS-45RC LCVR의 CDR1, CDR2 및 CDR3의 서열을 사용하여 단백질 BLAST를 통해 해독된 항체 구조의 서열을 검색했다.

[2428] CDR1의 경우, 상부 히트는 9개의 동일한 잔기 중 9개를 갖는 서열의 클러스터로 구성되었다. 이들 중에는 PDB ID: 4NCC 및 PDB ID: 1QOK가 있었다. 따라서, PDB ID: 4NCC 구조가 CDR1의 주형으로서 채택되었다.

[2429] CDR2의 경우, 상부 히트는 7개의 동일한 잔기 중 6개를 갖는 서열의 클러스터로 구성되었다. 이들 중에는 PDB ID: 4NCC 및 PDB ID: 1QOK가 또한 있었다. 따라서, PDB ID: 4NCC 구조가 또한 CDR2의 주형으로서 채택되었다.

[2430] CDR3의 경우, 겹을 함유하지 않는 상부 히트는 13개의 동일한 잔기 중 13개를 갖는 PDB ID: 1QOK였다. 그러나, PDB ID: 4NCC는 13개의 동일한 잔기 중 12개를 갖는 근접한 두 번째였다. 두 구조의 비교는 L95F 치환을 제외하고는 본질적으로 동일한 형태를 나타냈다. 따라서, PDB ID: 4NCC 구조가 CDR3의 주형으로서 채택되었고, L95F의 로타머 형태는 PDB ID: 1QOK를 참조하여 선택되었다(PyMol에서).

[2431] 따라서, PDB ID: 4NCC가 모든 LCVR의 CDR의 1차 주형으로서 선택되었기 때문에, LCVR 프레임워크 주형에 임의의 CDR 주형을 맞추는 필요는 없었다.

[2432] 마지막으로, LCVR 부분 모델은 ABIS-45RCLCVR 서열과 일치시키기 위해, 최적 로타머를 선택하여 8개 위치에서 돌연변이유발에 수동으로 적용했다(PyMol에서).

[2433] 중쇄

[2434] 이 섹션에서, 달리 특정되지 않는 한, 아미노산 넘버링은 서열번호 61에 기초한다.

[2435] 다음으로, HCVR의 프레임워크 잔기를 사용하여 단백질 BLAST를 통해 해독된 항체 구조의 서열을 검색했다. 상부 히트는 ABIS-45RC의 HCVR의 것들과 동일한 90개 프레임워크 잔기 중 84개, 유사한 90개 중 85개를 갖는 PDB ID: 3OPZ(3.40 Å 해상도)였다.

[2436] PDB ID: 3OPZ는 N 말단 잔기를 누락했고, 상당히 불량한 해상도로 분해되었기 때문에, 최고 동일성/유사성 스코어를 갖는 추가의 히트가 또한 조사되었다. 이들 중 상부는 ABIS-45RC의 HCVR의 것들과 동일한 91개 프레임워크

크 잔기 중 78개, 유사한 91개 중 87개를 갖는 PDB ID: 4CAD(2.50Å 해상도); 및 ABIS-45RC의 HCVR의 것들과 동일한 91개 프레임워크 잔기 중 75개, 유사한 91개 중 87개를 갖는 PDB ID: 1RUR(1.50Å 해상도)이었다.

- [2437] PDB ID: 30PZ 및 PDB ID: 4CAD 구조의 비교는 주요한 차이인 대안적인 잔기 로타머와 함께 높은 상동성을 나타냈다.
- [2438] PDB ID: 30PZ 및 PDB ID: 1RUR 구조의 비교는 유사하게 높은 상동성을 나타냈지만; PDB ID: 30PZ 및 PDB ID: 4CAD 구조에 비해 V_H -FR2 루프 L45-G49에서 유의한 형태적 변화가 있었다.
- [2439] 또한, 서열에 기초하여, ABIS-45RC의 HCVR 및 PDB ID: 4CAD는 위치 6에 글루타민의 존재 때문에 N-말단 가닥 5-12의 오네게르 유형 III(참조: Honegger & Plückthun, 2001. *J Mol Biol.* **309**(3):687-99) 형태를 나타내는 것으로 예측되었다. 그러나, PDB ID: 1RUR은 위치 6에서 글루탐산의 존재로 인해 오네게르 유형 I 형태를 나타내는 것으로 예측되었다. 그럼에도 불구하고, 3개의 구조는 5-12 가닥의 동일한 형태를 나타냈다. 또한, ABIS-45RC의 HCVR, PDB ID: 4CAD 및 PDB ID: 1RUR의 서열은 HCVR의 CDR3에 대한 개정된 시라이(Shirai) 규칙에 의해 규정된 K-형태(뒤틀린 염기 형태)를 채택하는 것으로 예측되었다(참조: Kuroda *et al.*, 2008. *Proteins.* **73**(3):608-20).
- [2440] 후속적 CDR 검색, 높은 전체 서열 유사성, PDB ID: 30PZ와의 구조적 일치, 및 높은 실험적 해상도 결과에 기초하여, 구조 PDB ID: 1RUR의 HCVR이 HCVR 프레임워크 주형으로서 선택되었지만; PDB ID: 4CAD의 45-49 루프(PDB ID: 30PZ의 것과 동일한 형태를 가짐)가 프레임워크 주형에 루프 주형 단편을 고정시키기 위해 45-49 말단에 2개의 잔기 N 및 C-말단 오버행을 사용하여 HCVR 주형에서 PDB ID: 1RUR의 것으로 치환되었다.
- [2441] 후속적으로, 각 말단에 2개의 잔기를 첨가한 HCVR의 CDR1, CDR2 및 CDR3의 서열을 사용하여 단백질 BLAST를 통해 해독된 항체 구조의 서열을 검색했다.
- [2442] CDR1의 경우, 12개의 동일한 잔기 중 9개를 갖는 서열 히트의 클러스터가 있었다. 이들 중에는 PDB ID: 1RUR이 있었다. 따라서, PDB ID: 1RUR 구조가 CDR1의 주형으로서 선택되었다.
- [2443] CDR2의 경우, 상부 히트는 ABIS-45RC의 HCVR의 것들과 동일한 12개 잔기 중 8개, 유사한 12개 중 9개를 갖는 PDB ID: 3NTC(1.55Å 해상도)였다. 그러나, PDB ID: 1RUR은 ABIS-45RC의 HCVR의 것들과 동일한 12개 잔기 중 7개, 유사한 12개 중 9개를 갖는 근접한 두 번째였다. 두 구조의 비교는 본질적으로 동일한 형태를 나타냈고, PDB ID: 3NTC의 더 높은 동일성은 BLAST 검색 목적을 위해 CDR2 서열에 추가된 2개의 C 말단 잔기 때문이다. 따라서, PDB ID: 1RUR 구조가 CDR2의 주형으로서 바람직했다.
- [2444] CDR3의 경우, 겹을 함유하지 않는 상부 두 히트는 모두 ABIS-45RC의 HCVR의 것들과 동일한 11개 잔기 중 8개, 유사한 11개 중 9개를 갖는 PDB ID: 1NGY(2.20Å 해상도)와 PDB ID: 1NGZ(1.60Å 해상도)였다. 두 구조의 비교는 현저하게 상이한 주쇄 형태를 나타냈다. 이론에 결부시키지 않고, 본 발명자들은 이 차이가 위치 101의 잔기로 인한 것일 수 있다고 가정했다. PDB ID: 1NGY에서, 더 큰 메티오닌은 이의 측쇄를 단백질의 코어로 지시하는 PDB ID: 1NGZ의 더 작은 세린의 방향을 채택할 수 없다. ABIS-45RC의 HCVR 서열과 일치시키기 위한 목적하는 치환이 F101이기 때문에, PDB ID: 1NGY 구조가 CDR3의 주형으로서 채택되었다. 다음으로, HCVR 부분 모델을 완성하기 위해, CDR3 주형은 프레임워크 주형(PyMol에서)에 CDR 주형 단편을 고정시키기 위해, 이의 말단에 2개의 잔기 오버행을 사용하여 변형된 PDB ID: 1RUR HCVR 주형에 그래프팅했다.
- [2445] 마지막으로, ABIS-45RC의 HCVR 서열을 일치시키기 위해, 최적 로타머를 선택하면서 HCVR 부분 모델을 23 위치에서 돌연변이유발에 수동으로 적용했다(PyMol에서).
- [2446] 최종 모델 조립
- [2447] 후속적으로, HCVR 및 LCVR 부분 모델의 최상의 3차 배열을 선택하여 최종 모델을 조립하였다. HCVR 및 LCVR 주형 서열은 패킹 각도 예측 서버(PAPS)(참조: (Abhinandan & Martin, 2010. *Protein Eng Des Sel.* **23**(9):689-97)에 제출하여 예측된 가장 적합한 3차 배열을 찾았다. PAPS 서버는 상대적 패킹 각도 -45.6° 를 갖는 해독된 항체 구조 PDB ID: 1MNU가 HCVR 및 LCVR의 최상의 3차 배열을 제공한다고 예측했다. 따라서, 최종 모델은 HCVR 및 LCVR 부분 모델의 보존된 앵커 세그먼트의 백본 좌표를 PDB ID: 1MNU에 맞추으로써 조립되었다(PyMol에서).
- [2448] 마지막으로, 이 최종 모델의 좌표를 GROMOS96 역장(참조: Scott *et al.*, 1999. *J Phys Chem A.* **103**(19):3596-3607)을 갖는 GROMACS(참조: Van der Spoel *et al.*, 2005. *J Comput Chem.* **26**(16):1701-18)를 사용하는 에너지

최소화 라운드에 적용했다.

[2449] 인간 생식세포계열

[2450] ABIS-45RC의 HCVR 및 LCVR의 CDR-그래프트된 버전의 설계를 위해, 3개의 인간 생식세포계열이 2회 선택되었다:

[2451] - HCVR을 위해, IGHV1-2*01, IGHV5-51*01 및 IGHV3-11*05; 및

[2452] - LCVR을 위해, IGKV1-9*01, IGKV6-21*02 및 IGKV3-11*01.

[2453] 인간화된 HCVR 및 LCVR의 설계

[2454] HCVR 및 LCVR 모두를 위한 인간화된 버전 A는 CDR 잔기의 변경을 명시적으로 최소화하고/하거나 회피하는 보존적 버전이다. 따라서, 이러한 버전은 키메라 항체(인간 불변 영역[서열번호 91 및 92]에 융합된 ABIS-45RC의 HCVR[서열번호 61] 및 LCVR[서열번호 81])와 유사하거나 더 양호한 결합 및/또는 효능 활성을 제공할 것으로 예상된다.

[2455] HCVR 및 LCVR 모두를 위한 인간화된 버전 B는 가장 근접한 인간 생식세포계열과 적어도 85%의 서열 동일성 백분율에 도달하도록 설계된다. 이는 FR 및/또는 CDR 아미노산 잔기를 생식세포계열화함으로써(즉, 상응하는 인간 생식세포계열 잔기로 마우스 잔기를 치환함으로써) 달성될 수 있다. 85%는 항체 국제 비전형 명칭(INN)에 대한 2014년 세계 보건 기구(WHO) 지침에 따라 "인간화된" 디노미네이션에 대한 서브스텝 -zu-를 수득하는데 필요한 컷-오프 백분율 동일성이다.

[2456] HCVR 및 LCVR 모두를 위한 인간화된 버전 C는 최고도의 인간성(즉, 상응하는 인간 생식세포계열과 최고도의 서열 동일성)에 도달하도록 설계된다. 상동성 분자 모델의 검사 후, 잔기의 수는 생식세포계열화의 후보로 동정되었다. 따라서, 합리적으로 생식세포계열화될 수 있는 모든 잔기가 고려되었다.

[2457] IGHV1-2*01을 사용하는 HCVR

[2458] IGHV1-2*01로부터 인간화 HCVR 버전 A를 설계하기 위해, 무린 CDR(서열번호 1, 4 및 3을 가짐)을 IGHV1-2*01에 그래프팅하고, FR2 및 FR3에서 4개의 잔기를 부모 무린 잔기로 역돌연변이시켜 항체의 완전 활성을 유지시켰다. 이러한 잔기는 서열번호 61에서 I48, L70, A72 및 V97이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 62에 제시된 바와 같고, IGHV1-2*01 인간 생식세포계열과 81.6% 서열 동일성을 공유한다.

[2459] 버전 A 이외에, IGHV1-2*01로부터 인간화된 HCVR 버전 B를 설계하기 위해, CDR2 중 5개의 아미노산 잔기는 추가로 생식세포계열화했다(즉, 상응하는 IGHV1-2*01 인간 생식세포계열 잔기로 치환되었다). 이러한 잔기는 서열번호 61에서 D56G, A58T, S60Y, N61A 및 K65Q이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 65에 제시된 바와 같고, IGHV1-2*01 인간 생식세포계열과 86.7% 서열 동일성을 공유한다.

[2460] 버전 B 이외에, IGHV1-2*01로부터 인간화된 HCVR 버전 C를 설계하기 위해, CDR2 중 2개의 아미노산 잔기는 추가로 생식세포계열화했다. 이러한 잔기는 서열번호 61에서 D50R 및 E62Q이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 68에 제시된 바와 같고, IGHV1-2*01 인간 생식세포계열과 88.8% 서열 동일성을 공유한다.

[2461] IGHV1-2*01로부터 HCVR의 다양한 다른 인간화된 버전이 버전 B로부터 출발하여 추가로 설계되었다. 실제로, 충분히 인간화된 모노클로날 항체를 수득하기 위해, 85%는 충분한 것으로 가정된다(IGHV1-2*01로부터의 버전 B는 IGHV1-2*01 인간 생식세포계열과 86.7% 서열 동일성을 공유한다). 돌연변이를 도입할 위험을 감소시키기 위해, 따라서 버전 D, E, F, G 및 H는 85%에 도달하고 그 이상 도달하지 않도록 설계되었다.

[2462] IGHV1-2*01로부터 생성되는 HCVR 버전 D, E, F, G 및 H는 각각 서열번호 101, 121, 122, 123 및 124에 제시된 바와 같고, 모두 IGHV1-2*01 인간 생식세포계열과 85.7% 서열 동일성을 공유한다.

[2463] IGHV5-51*01을 사용하는 HCVR

[2464] IGHV5-51*01로부터 인간화된 HCVR 버전 A를 설계하기 위해, 무린 CDR(서열번호 1, 4 및 3을 가짐)을 IGHV5-

51^{*}01에 그래프팅하고, FR1, FR2 및 FR3에서 6개의 잔기를 부모 뮤린 잔기로 역돌연변이시켜 항체의 완전 활성을 유지시켰다. 이러한 잔기는 서열번호 61에서 A24, T28, I48, L70, L83 및 V97이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 63에 제시된 바와 같고, IGHV5-51^{*}01 인간 생식세포계열과 79.6% 서열 동일성을 공유한다.

[2465] 버전 A 이외에, IGHV5-51^{*}01로부터 인간화된 HCVR 버전 B를 설계하기 위해, FR1 중 1개의 아미노산 잔기 및 CDR2 중 6개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이러한 잔기는 서열번호 61에서 A24G, D56S, A58T, S60Y, N61S, K63S 및 K65Q이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 66에 제시된 바와 같고, IGHV5-51^{*}01 인간 생식세포계열과 86.7% 서열 동일성을 공유한다.

[2466] 버전 B 이외에, IGHV5-51^{*}01로부터 인간화된 HCVR 버전 C를 설계하기 위해, FR1 중 1개의 아미노산 잔기 및 CDR2 중 2개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이러한 잔기는 서열번호 61에서 T28S, D50I 및 E62P이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 69에 제시된 바와 같고, IGHV5-51^{*}01 인간 생식세포계열과 89.8% 서열 동일성을 공유한다.

[2467] IGHV3-11^{*}05를 사용하는 HCVR

[2468] IGHV3-11^{*}05로부터 인간화된 HCVR 버전 A를 설계하기 위해, 뮤린 CDR(서열번호 1, 4 및 3을 가짐)을 IGHV3-11^{*}05에 그래프팅하고, FR1, FR2 및 FR3에서 9개의 잔기를 부모 뮤린 잔기로 역돌연변이시켜 항체의 완전 활성을 유지시켰다. 이러한 잔기는 서열번호 61에서 Y27, T30, I48, G49, L70, A72, T74, A79 및 V97이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 64에 제시된 바와 같고, IGHV3-11^{*}05 인간 생식세포계열과 76.5% 서열 동일성을 공유한다.

[2469] 버전 A 이외에, IGHV3-11^{*}05로부터 인간화된 HCVR 버전 B를 설계하기 위해, FR1 중 2개의 아미노산 잔기, CDR2 중 6개의 아미노산 잔기 및 FR3 중 1개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이러한 잔기는 서열번호 61에서 Y27F, T30S, D56S, A58T, S60Y, N61A, E62D, K63S 및 A79L이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 67에 제시된 바와 같고, IGHV3-11^{*}05 인간 생식세포계열과 89.8% 서열 동일성을 공유한다.

[2470] 버전 B 이외에, IGHV3-11^{*}05로부터 인간화된 HCVR 버전 C를 설계하기 위해, FR2 중 1개의 아미노산 잔기 및 CDR2 중 1개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이러한 잔기는 서열번호 61에서 I48V 및 P53S이다. 생성되는 HCVR은 서열번호 70에 제시된 바와 같고, IGHV3-11^{*}05 인간 생식세포계열과 87.8% 서열 동일성을 공유한다.

[2471] IGKV1-9^{*}01을 사용하는 LCVR

[2472] IGKV1-9^{*}01로부터 인간화된 LCVR 버전 A를 설계하기 위해, 뮤린 CDR(서열번호 15, 16 및 17을 가짐, 여기서 X₁₂는 부재이다)을 IGKV1-9^{*}01에 그래프팅하고, FR2 및 FR3에서 3개의 잔기를 부모 뮤린 잔기로 역돌연변이시켜 항체의 완전 활성을 유지시켰다. 이러한 잔기는 서열번호 81에서 F35, W46 및 Y70이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 82에 제시된 바와 같고, IGKV1-9^{*}01 인간 생식세포계열과 83.2% 서열 동일성을 공유한다.

[2473] 버전 A 이외에, IGKV1-9^{*}01로부터 인간화된 LCVR 버전 B를 설계하기 위해, CDR1 중 1개의 아미노산 잔기 및 FR2 중 1개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이러한 잔기는 서열번호 81에서 S24R 및 F35Y이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 85에 제시된 바와 같고, IGKV1-9^{*}01 인간 생식세포계열과 85.3% 서열 동일성을 공유한다.

[2474] 버전 B 이외에, IGKV1-9^{*}01로부터 인간화된 LCVR 버전 C를 설계하기 위해, CDR2 중 2개의 아미노산 잔기 및 FR3 중 1개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이러한 잔기는 서열번호 81에서 N49A, P54Q 및 Y70F이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 88에 제시된 바와 같고, IGKV1-9^{*}01 인간 생식세포계열과 88.4% 서열 동일성을 공유한다.

- [2475] IGKV1-9^{*}01로부터의 LCVR 버전 D는 인간 생식세포계열 IGKV1-9^{*}01에서 발견된 CDR1에 여분의 잔기(Ser; S)를 도입하기 위해 추가로 설계되었다. CDR1 루프에 여분의 잔기의 도입은 결합 활성이 보존되었다는 것을 나타냈다 (데이터는 도시되지 않음). 버전 B의 CDR1에 세린 잔기의 도입은 서열 동일성이 86.3%로 이르게 하고, 따라서 돌연변이를 도입할 위험을 감소시키기 위하여, 카바트 잔기 L36이 원래 마우스 잔기 Phe (F)로 복귀된 버전 D를 설계했다. 생성되는 LCVR은 서열번호 103에 제시된 바와 같다.
- [2476] IGKV6-21^{*}02를 사용하는 LCVR
- [2477] IGKV6-21^{*}02로부터 인간화된 LCVR 버전 A를 설계하기 위해, 뮤린 CDR(서열번호 15, 16 및 17을 가짐, 여기서 X₁₂는 부재이다)을 IGKV6-21^{*}02에 그래프팅하고, FR2 및 FR3에서 4개의 잔기를 부모 뮤린 잔기로 역돌연변이시켜 항체의 완전 활성을 유지시켰다. 이러한 잔기는 서열번호 81에서 F35, W46, Y48 및 Y70이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 83에 제시된 바와 같고, IGKV6-21^{*}02 인간 생식세포계열과 81.1% 서열 동일성을 공유한다.
- [2478] 버전 A 이외에, IGKV6-21^{*}02로부터 인간화된 LCVR 버전 B를 설계하기 위해, CDR1 중 1개의 아미노산 잔기, FR2 중 1개의 아미노산 잔기, CDR2 중 1개의 아미노산 잔기 및 FR3 중 1개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이러한 잔기는 서열번호 81에서 S24R, F35Y, L53S 및 Y70F이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 86에 제시된 바와 같고, IGKV6-21^{*}02 인간 생식세포계열과 85.3% 서열 동일성을 공유한다.
- [2479] 버전 B 이외에, IGKV6-21^{*}02로부터 인간화된 LCVR 버전 C를 설계하기 위해, CDR3 중 1개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이 잔기는 서열번호 81에서 Q88H이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 89에 제시된 바와 같고, IGKV6-21^{*}02 인간 생식세포계열과 86.3% 서열 동일성을 공유한다.
- [2480] IGKV3-11^{*}01을 사용하는 LCVR
- [2481] IGKV3-11^{*}01로부터 인간화된 LCVR 버전 A를 설계하기 위해, 뮤린 CDR(서열번호 15, 16 및 17을 가짐, 여기서 X₁₂는 부재이다)을 IGKV3-11^{*}01에 그래프팅하고, FR2 및 FR3에서 3개의 잔기를 부모 뮤린 잔기로 역돌연변이시켜 항체의 완전 활성을 유지시켰다. 이러한 잔기는 서열번호 81에서 F35, W46 및 Y70이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 84에 제시된 바와 같고, IGKV3-11^{*}01 인간 생식세포계열과 84.2% 서열 동일성을 공유한다.
- [2482] 버전 A 이외에, IGKV3-11^{*}01로부터 인간화된 LCVR 버전 B를 설계하기 위해, CDR1 중 1개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이 잔기는 서열번호 81에서 S24R이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 87에 제시된 바와 같고, IGKV3-11^{*}01 인간 생식세포계열과 85.3% 서열 동일성을 공유한다.
- [2483] 버전 B 이외에, IGKV3-11^{*}01로부터 인간화된 LCVR 버전 C를 설계하기 위해, FR2 중 1개의 아미노산 잔기, CDR2 중 3개의 아미노산 잔기 및 FR3 중 1개의 아미노산 잔기를 추가로 생식세포계열화했다. 이들 잔기는 서열번호 81에서 F35Y, L53R, P54A, S55 및 Y70F이다. 생성되는 LCVR은 서열번호 90에 제시된 바와 같고, IGKV3-11^{*}01 인간 생식세포계열과 90.5% 서열 동일성을 공유한다.
- [2484] **실시예 6:**
- [2485] **인간화된 항-45RC 항체의 생산, 정제 및 특성화**
- [2486] 분석적 크기 배제 크로마토그래피(SEC-HPLC) 및 시차 주사 열량계(DSC)를 사용하여 각각 9개의 인간화된 항-45RC 변이체 A 내지 I의 프로파일 및 열 안정성을 비교했다. 이러한 변이체는 실시예 5에 기재된 "버전 A" HCVR 및 LCVR을 포함하는 항체에 상응한다. 분석적 크기 배제 크로마토그래피(SEC-HPLC) 및 시차 주사 열량계(DSC)를 또한 사용하여 각각 4개의 다른 인간화된 항-45RC 변이체 A1, A2, I1 및 I2의 프로파일 및 열 안정성을 비교했다.
- [2487] 재료 및 방법
- [2488] SEC-HPLC

- [2489] Superdex 200 Increase 5/150 GL 컬럼(GE Healthcare)이 장착된 시마즈 프로미넌스 HPLC 시스템이 사용되었다. 컬럼은 샘플 분석 동안(GE Healthcare의 분자량 SEC 교정 키트 사용, PBS 1X 중, 0.25mL/분, 컬럼 오븐은 30℃로 설정함) 사용된 동일한 완충제 및 조건에서 이미 교정되었다.
- [2490] 모든 샘플을 원심분리하고(20.000g, 5분, 4℃), SEC 분석 전에 IgG 분석 프로그램이 장착된 Nanodrop ND-1000 분광 광도계에 의해 정량화된 단백질 함량을 가졌다.
- [2491] 등용매 프로그램은 18분 동안 0.25mL/분에서, 각 샘플의 약 15μg을 주입하도록 설정하였다. SEC 분석 후, 280nm 크로마토그램을 미가공 데이터로부터 추출하고, 피크 통합으로 분석했다.
- [2492] DSC
- [2493] Microcal™ VP-모세관 DSC 시스템을 사용하여 시차 주사 열량계 실험을 수행했다.
- [2494] 1X PBS 완충제 중 샘플을 원심분리하였고(20.000g, 5분, 4℃), DSC 분석 이전에, IgG 분석 프로그램을 갖는 Nanodrop ND-1000 분광 광도계로 정량화된 단백질 함량을 가졌다. 이어서, 샘플을 1mg/mL의 최종 농도로 PBS로 희석시켰다.
- [2495] 사전 평형 시간은 3분이었고, 이어지는 써모그램은 60℃/시간의 주사 속도, 25초의 여과 기간 및 배지 피드백과 함께 20 내지 110℃에서 획득되었다.
- [2496] 샘플 분석 이전에, 5개의 완충제/완충제 스캔을 측정하여 장비를 안정화시키고, 각 단백질/완충제 스캔 사이에 완충제/완충제 스캔이 수행되었다.
- [2497] 데이터는 비-2-상태 비중첩 모델에 적합화되었고, 전이 전후 조정된 기준선을 공제했다. 열량 측정 엔탈피(ΔH)는 전이 피크하의 면적으로 결정된 반면, 반트 호프(van't Hoff) 엔탈피(ΔH_v)는 사용된 모델로부터 결정된다.
- [2498] 결과
- [2499] SEC-HPLC
- [2500] SEC 파라미터의 요약은 이하 표 7에 제시된다.

표 7

인간화된 ABIS-45RC 변이체 A-I, A1, A2; I1 및 I2의 SEC 파라미터

ABIS-45RC 변이체	피크 #	RT	면적	면적 %	계산된 MW
A	1	4.939	373336	10.62	510
	2	5.212	790998	22.50	404
	3	6.099	2351531	66.88	190
B	1	4.671	1305266	26.47	640
	2	5.013	1451918	29.44	478
	3	5.899	2174527	44.10	225
C	1	4.896	405089	14.04	529
	2	5.148	527782	18.29	426
	3	5.980	1788411	61.97	210
D	4	7.708	164621	5.70	48
	1	4.939	126757	5.38	510
	2	5.268	430061	18.25	385
	3	6.137	1799214	76.37	184
E	1	4.738	607732	18.87	605
	2	5.039	686150	21.31	468
	3	5.925	1925975	59.82	220
F	1	4.811	791680	13.93	568
	2	5.124	1306598	22.99	435
	3	5.977	3585434	63.08	211
G	1	4.768	185266	3.54	589
	2	5.092	889883	16.99	447
	3	5.893	4159958	79.46	226
H	1	4.896	105313	1.90	529
	2	5.158	506367	9.11	423
	3	5.962	4941812	88.99	213
I	1	5.142	123472	3.16	429
	2	6.081	3783288	96.84	193
A1	1	5.074	129770	2.65	478
	2	6.098	4775239	97.35	189
A2	1	5.074	129770	2.65	478
	2	6.098	4775239	97.35	189
I1	1	4.885	131671	2.5	567
	2	5.146	355754	6.78	447
	3	6.142	4760685	90.7	181
I2	1	4.864	32276	0.73	578
	2	5.150	168687	3.79	446
	3	6.181	4246352	95.48	175

RT: 체류 시간 (분)

MW: 분자량 (kDa)

[2501]

[2502] 상기 표 7은 단량체성 비침전된 및 비해리된 항체에 대해 예상된 RT 및 계산된 MW와 함께 항-CD45RC 항체에 상응하는 피크를 볼드체로 나타냈다(변이체 A 내지 H, I1 및 I2 각각에 대해 피크 3; 변이체 I, A1 및 A2 각각에 대해 피크 2).

[2503] DSC

[2504] DSC 파라미터의 요약은 이하 표 8에 제시된다.

표 8

인간화된 ABIS-45RC 변이체 A-I, A1, A2; I1 및 I2의 DSC 파라미터. 항체의 변성은 2단계로 일어나고, 따라서 각 단계에 하나씩 2개의 용점이 제시된다.

ABIS-45RC 변이체	Conc.	T _{1/2}	ΔH	T _{onset}	T _{m1}	T _{m2}
A	0.0035	7.09	763	55.59	66.44	80.64
B	0.0056	7.09	776	55.96	64.73	81.01
C	0.0031	7.93	596	55.95	63.05	79.74
D	0.0023	5.83	863	60.09	70.91	80.10
E	0.0042	5.83	762	57.09	71.28	80.05
F	0.0099	5.41	867	58.63	71.15	80.34
G	0.0087	5.01	824	60.76	69.93	80.79
H	0.0093	4.59	877	59.79	68.14	80.24
I	0.0055	5.42	809	62.07	70.83	81.27
A1	0.0049	3.32	969	61.09	68.17	81.91
A2	0.0070	5.83	1150	60.21	66.92	81.94
I1	0.0067	3.75	1080	63.08	73.08	81.84
I2	0.0055	4.16	1030	63.68	72.43	82.02

Conc.: 농도 (mM).

T_{1/2}: 피크의 절반 높이에서 전이 너비 (°C).

ΔH: 비중점 열량 측정 엔탈피 (cal/M).

T_{onset}: 비중점 전이가 시작하는 온도 (°C).

T_{m1}: 제1 단계의 변성/용융 온도 (°C).

T_{m2}: 제2 단계의 변성/용융 온도 (°C).

[2505]

[2506]

실시예 7:

[2507]

인간화된 ABIS-45RC 변이체 A-I의 반응성

[2508]

재료 및 방법

[2509]

PBMC 분리

[2510]

혈액 건강한 자원 봉사자를 수집하고, 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC)를 과립구, 혈소판 및 리딩 적혈구 오염물질과 같은 혈액 생성물의 불필요한 분획의 제거를 가능하게 하는 피콜 구배 원심분리로 분리시켰다.

[2511]

항체 및 유세포 측정법

[2512]

인간 PBMC를 묶인 ABIS-45RC 항체 또는 각각의 인간화된 ABIS-45RC 항체 변이체 A-I(2μg/mL 및 1μg/mL); 및 항-CD3 항체로 표지화했다. 묶인 및 인간화된 ABIS-45RC 항체 반응성은 비오틴 당나귀 항-인간 IgG⁺ 스트렙타비딘 PerCP-Cy 5.5 2차 항체를 사용하여 나타냈다.

[2513]

칸토 II 세포측정기(BD Biosciences)를 사용하여 형광 강도를 측정하고, 데이터는 FLOWJO 소프트웨어(Tree Star Inc.)를 사용하여 분석했다. 세포를 먼저 그들의 형태에 의해 게이팅하고, 죽은 세포는 DAPI-음성 세포를 선택함으로써 배제시켰다.

[2514]

결과

[2515]

ABIS-45RC 및 상업적 항-CD45RC MT2 항체는 모두 동일한 에피토프에 대해 경쟁한다

[2516]

인간화된 ABIS-45RC 항체 (변이체 A, 도 5a; 변이체 B, 도 5b; 변이체 C, 도 5c; 변이체 D, 도 5d; 변이체 E, 도 5e; 변이체 F, 도 5f; 변이체 G, 도 5g; 변이체 H, 도 5h; 변이체 I, 도 5i) 또는 묶인 ABIS-45RC(도 5j) 중 어느 하나에 의한 표지화는 항체가 유사한 방식으로 인간 CD45RC를 인식했음을 보여준다.

[2517]

실시예 8:

[2518]

조작된 항체

[2519]

ABIS-45RC의 LCVR의 CDR1은 마우스 항체에 독특한 표준 구조를 갖고, 10개의 아미노산 잔기의 길이(서열번호 15, 여기서 X₁₂는 부제이다, 즉 SASSSVSYMH이다)를 갖는다.

[2520]

실시예 5에 기재된 LCVR의 인간화된 버전 A, B 및 C의 설계를 위해, 이 10-아미노산 잔기 CDR1은 임의의 잔기의 첨가 또는 결실 없이 역돌연변이 및/또는 생식세포계열화로 인간 생식세포계열에 그래프팅했다. 그러나, 인간

생식세포계열에서, LCVR의 CDR1은 11개 아미노산 잔기의 최소 길이를 갖는다.

- [2521] 따라서, 인간화된 항체의 인간성을 증가시키기 위해, 본 발명자들은 하나의 여분의 잔기로 이를 연장시키기 위해 ABIS-45RC VL-CDR1 "SASSSVSYMH"를 조작하고자 했다. 하나의 후보 위치는 서열번호 15의 위치 8(X_{12} 로서 지정됨), 즉 서열번호 81에서 S30과 Y31 사이이다. 인간화 설계를 위한 후보 생식세포계열 모두에서, 이 위치는 Asn (N), Ser (S) 또는 Gly (G)가 차지하는 반면, 무린 생식세포계열에서, 이 위치는 비어 있다.
- [2522] 이러한 삽입의 구조적 관련성과 안정성을 조사하기 위하여, ABIS-45RC VL-CDR1을 아스파라긴, 즉 X_{12} 가 Asn (N)인 서열번호 15, 즉 SASSSVSYMH의 삽입으로 확장시켰다. 이어서, 단백질 BLAST를 통해 해독된 항체 구조의 서열의 검색이 수행되었다. 상부 히트는 구조 PDB ID: 5CMA의 LCVR CDR1이었다. 후속적으로, 이 구조적 세그먼트를 모델에 CDR 주형 단편을 고정시키기 위해 이의 말단에 2개 잔기 오버행을 사용하여 ABIS-45RC 모델에 그 래프팅했다. 추가 잔기를 수용하기 위해, 인접 잔기를 이동시키고, 이로 인해 Y70을 갖는 약간의 입체 충돌을 제시하는 형태 변화가 있었음이 관찰되었다. 그러나, 모든 인간 생식세포계열에서, 이 잔기는 더 수용되는 페닐알라닌이다.
- [2523] 조작된 마우스 항체
- [2524] 상기에 기초하여, 본 발명자들은 아스파라긴 잔기(Asn, n)를 VL-CDR1에 삽입하고, 추가로 서열번호 81의 Y70을 페닐알라닌(Phe, F)으로 돌연변이시켜 ABIS-RC45 항체를 조작했다. 생성되는 "조작된 Asn/Phe ABIS-RC45" LCVR은 서열번호 71에 제시되어 있고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N)이다.
- [2525] 2개의 다른 마우스 항체는 또한 세린 잔기(Ser, S) 또는 글리신 잔기(Gly, G)를 VL-CDR1에 삽입하고, 추가로 서열번호 81의 Y70을 페닐알라닌(Phe, F)으로 돌연변이시켜으로써 동일한 기준으로 생성되었다. 2개의 생성되는 "조작된 Ser/Phe ABIS-RC45" 및 "조작된 Gly/Phe ABIS-RC45" LCVR은 서열번호 71에 제시되어 있고, 여기서 X_{12} 는 각각 Ser (S) 또는 Gly (G)이다.
- [2526] 조작된 인간화 항체
- [2527] 상기에 기초하여, 조작된 인간화된 LCVR 버전 A, B 및 C(실시예 5에 기재된 바와 같음)는 서열번호 72 내지 80에 제시된 바와 같이 추가로 설계될 수 있고, 여기서 X_{12} 는 Asn (N), Ser (S) 또는 Gly (G)이고, 위치 70의 잔기는 Phe (F)이다.
- [2528] 실시예 9:
- [2529] **조작된 Asn/Phe ABIS-45RC의 반응성**
- [2530] 재료 및 방법
- [2531] 건강한 자원 봉사자로부터 혈액을 수집하고, 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC)를 과립구, 혈소판 및 리밍 적혈구 오염물질과 같은 혈액 생성물의 불필요한 분획의 제거를 가능하게 하는 피콜 구배 원심분리로 분리시켰다.
- [2532] 인간 PBMC를 ABIS-45RC 또는 조작된 Asn/Phe ABIS-45RC 및 항-CD3 항체로 표지화했다. 반응성은 비오틴 당나귀 항-인간 IgG⁺ 스트랩타비딘 PerCP-Cy 5.5 2차 항체를 사용하여 나타냈다.
- [2533] 칸토 II 세포측정기(BD Biosciences)를 사용하여 형광 강도를 측정하였고, 데이터는 FLOWJO 소프트웨어(Tree Star Inc.)를 사용하여 분석했다. 세포를 먼저 그들의 형태에 의해 게이팅하고, 죽은 세포는 DAPI-음성 세포를 선택함으로써 배제시켰다.
- [2534] 결과
- [2535] 도 6에 도시된 바와 같이, ABIS-45RC(좌측 패널) 또는 조작된 Asn/Phe ABIS-45RC(우측 패널) 중 하나에 의한 표지화는 두 항체가 유사한 방식으로 인간 CD45RC를 인식했음을 보여준다.
- [2536] 실시예 10:
- [2537] **인간화된 ABIS-45RC의 반응성**
- [2538] 재료 및 방법
- [2539] 건강한 자원 봉사자로부터 혈액을 수집하고, 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC)를 과립구, 혈소판 및 리밍 적혈구 오

염물질과 같은 혈액 생성물의 불필요한 분획의 제거를 가능하게 하는 피콜 구배 원심분리로 분리시켰다.

[2540] 인간 PBMC를 ABIS-45RC 또는 20, 5, 1.25 또는 0.3 μ g/mL의 인간화된 ABIS-45RC 및 항-CD3 항체로 표지화했다. 반응성은 비오틴 당나귀 항-인간 IgG⁺ 스트렙타비딘 PercpCy 5.5 2차 항체를 사용하여 나타냈다.

[2541] 칸토 II 세포측정기(BD Biosciences)를 사용하여 형광 강도를 측정하고, 데이터는 FLOWJO 소프트웨어(Tree Star Inc.)를 사용하여 분석했다. 세포를 먼저 그들의 형태에 의해 게이팅하였고, 죽은 세포는 DAPI-음성 세포를 선택함으로써 배제시켰다.

[2542] 결과

[2543] 다양한 농도로 무린 ABIS-45RC(**도 7a**) 또는 인간화된 ABIS-45RC 변이체 A1(**도 7b**) 또는 변이체 A3(**도 7c**) 중 하나에 의한 표지화는 두 항체가 유사한 방식으로 인간 CD45RC를 인식했음을 보여준다.

[2544] 실시예 11:

[2545] **인간화된 ABIS-45RC 변이체에 의한 세포사 유도**

[2546] 재료 및 방법

[2547] 인간 PBMC는 배지, 아이소타입 대조군 Ab 또는 항-CD45RC 변이체(10 μ g/mL)와 함께 배양했다. 이어서, 세포를 항-CD3 및 항-CD45RA, 아넥신 V 및 DAPI로 염색했다. 총 아포토시스의 백분율은 유세포 계측법에 의해 T 또는 비-T 세포 중에서 DAPI⁺ 아넥신 V⁺ + DAPI⁻ 아넥신 V⁺ 세포 상에 게이팅하여 수득하였다.

[2548] 결과

[2549] ABIS-45RC 또는 인간화된 변이체 A1 또는 A3은 CD3⁻ 세포(**도 8b**)가 아니라 CD3⁺ 세포(**도 8a**)의 세포사를 효율적으로 유도했다.

[2550] 실시예 12:

[2551] **ABIS-45RC 및 인간화된 변이체 A1을 사용한 인간 피부 거부반응의 치료**

[2552] 재료 및 방법

[2553] PBMC 분리

[2554] 혈액은 건강한 개인의 **Établissement Français du Sang (Nantes, France)**에서 수집하였다. 제도적 지침에 따라 서면 사전 동의가 제공되었다. PBMC는 피콜-파크 밀도-구배 원심분리(Eurobio, Courtaboeuf, France)에 의해 분리시켰다. 나머지 적혈구 및 혈소판은 저장성 용액 및 원심분리로 제거되었다.

[2555] 동물

[2556] 8- 내지 12주령 NOD/SCID/IL2R γ ^{-/-} (NSG) 마우스는 SPF 조건(승인 번호 C44-278)에서 본 발명자 자신의 동물 시설에서 사육시켰다.

[2557] 인간 피부 이식 모델

[2558] 인간 피부는 건강한 자원 봉사자로부터 복강 형성술 수술로 수득하였고, 이전에 기재된 바와 같이 이식을 수행했다(참조: Bezie *et al.*, 2018. *Front Immunol.* 8:2014). 1개월 후, 동종 이계의 건강한 자원 봉사자의 5x10⁶ PBMC를 항체를 사용하거나 사용하지 않고 정맥내 주입했다.

[2559] 이식 거부는 현미경 관찰로 건조도(스코어 1), 강성(스코어 2), 딱지(스코어 3), 부분 손실(스코어 4) 및 피부의 완전 손실(스코어 5)에 기초하여 0 내지 5로 스코어화했다.

[2560] 인간 PBMC 생착은 유세포 계측법에 의해 혈액에서 모니터링했다.

[2561] 치료

[2562] NSG 마우스는, 0일째부터 10일째까지 0.4mg/일의 차선 투여량으로 라파마이신의 복강내 투여와 함께 0일째로부터 20일 동안 2.5일 마다 0.8mg/kg에서 정제된 ABIS-45RC 또는 인간화된 변이체 A1 항체로 복강내 처리했다.

- [2563] 결과
- [2564] PBMC에 의한 치료는 약 14일째에 개시된 체중 감소만을 유도했고, **도 9**에 도시된 바와 같이 33일째에 모든 마우스의 사망을 유도했다.
- [2565] 본 발명자들은 이전에 라파마이신 단독에 의한 치료가 생존율을 연장시키지 않았음을 보여주었다(평균 생존율: 21일(Bezie *et al.*, **2018**. *Front Immunol.* **8**:2014)). 여기서, ABIS-45RC 또는 인간화된 변이체 A1에 의한 치료는 피부 이식 거부반응을 완전히 폐기했다.
- [2566] **실시예 13:**
- [2567] **CD45RC-CAR을 사용한 세포 공학**
- [2568] 재료 및 방법
- [2569] 렌티바이러스 벡터
- [2570] CAR-CD45RC를 인코딩하는 자가-불활성화 제2 세대 렌티바이러스 벡터가 생성되었다. 이 벡터에서, EF1알파 프로모터는 지시된 순서로 다음 서열을 제어한다: 신호 펩티드, 링커에 의해 융합된 항-CD45RC mAb(ABIS-45RC)의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역, CD8-CD28 공동자극 신호 영역의 막관통 영역, CD3제타 형질도입 신호 영역, P2A 자가-스플라이싱 서열, GFP. 렌티바이러스 벡터를 VSV-G로 위형화하였다. 대조군으로 사용되는 Ctrl-CAR은 EF1알파 프로모터의 제어하에 CD45RC 이외의 항원 특이성을 갖는 모노클로날 항체의 가변 중쇄 및 경쇄 (및 CD8-CD28 공동자극 신호 영역 및 CD3제타 형질도입 신호의 막관통 영역) 및 CMV 프로모터의 제어하에 LNGFR을 인코딩한다. 이 Ctrl-CAR 렌티바이러스 벡터는 또한 VSV-G 위형화되었다.
- [2571] 세포 형질도입
- [2572] HEK (293) 또는 Jurkat 세포를 수거하고 1일째에 계수한 다음, DMEM 10% FBS, 10 µg/mL 페니실린-스트렙토마이신, 2nM L-글루타민의 2mL에 500,000 세포/웰로 6웰 플레이트에 플레이팅하였다. 2일째에, 배지를 피펫팅에 의해 제거하고, 2mL의 신선한 배지(37°C에서 예열됨)를 첨가하였다. 병행하여, 500 µL의 하기 제제가 웰당 첨가되었다:
- [2573] - 2.5 µg의 DNA는 실온(RT)에서 5분 동안 250 µL의 Optimem(Gibco, life technology)에서 희석된다.
- [2574] - 10 µL의 리포펙타민 TM 2000(Life technology, Invitrogen젠)은 RT에서 5분 동안 250 µL의 Optimem에서 희석된다.
- [2575] - DNA와 리포펙타민은 RT에서 20분 동안 혼합된다.
- [2576] GFP 검출
- [2577] 칸토 II 세포측정기(BD Biosciences)를 사용하여 형광 강도를 측정하고, 데이터는 FLOWJO 소프트웨어(Tree Star Inc.)를 사용하여 분석하였다. 세포는 그들의 형태에 의해 게이팅되었고, 이어서 죽은 세포는 DAPI 음성 세포를 선택함으로써 배제되었다. GFP는 세포를 단백질 L(Genscript)로 염색한 후 유세포 계측법으로 분석하였다.
- [2578] 결과
- [2579] CAR은 적어도 하나의 세포외 도메인, 임의로 힌지 도메인, 막관통 도메인, 적어도 하나의 공동자극 도메인 및 적어도 하나의 1차 신호전달 도메인을 갖도록 설계되었다(**도 10**). 본 발명의 하나의 CAR 작제물은 scFv CD45RC, CD8a 힌지 도메인 및 막관통 도메인, CD28 공동자극 도메인 및 CD3ζ 1차 신호전달 도메인을 보유하는 CAR이다. 임의로, GFP 코딩 서열은 T2A 자가-스플라이싱 서열(도시되지 않음)에 의해 그들로부터 분리된 CD45RC-CAR 서열의 3'에 인접하여 존재할 수 있다. 이 경우에, GFP는 CAR-CD45RC 발현의 대리 마커로서 사용될 수 있다.
- [2580] 본 발명자들은 HEK 세포가 GFP 염색에 의해 나타낸 바와 같이 GFP 모의 플라스미드와 비교하여 CD45RC-CAR로 형질감염될 수 있음을 보여주었다(**도 11**). 또한, 이 CAR 작제물은 또한 인간 불멸화된 T 세포주(Jurkat)에서 렌티바이러스 벡터로 형질도입될 수 있다. 실제로, CAR의 존재를 나타내는 GFP의 수준은 CD45RC CAR로 형질도입된 Jurkat 세포에서 58.7%이고, 형질도입되지 않은 Jurkat 세포에서는 단지 1.25%이다(**도 12**). 특히, Jurkat 세포에서 CAR의 표면 발현은 단백질 L 염색에 의해 확인되었고, GFP 염색과 양호한 상관관계를 입증하였고, 렌티바이러스가 기능적이었음을 전체적으로 입증하였다(**도 13**).

- [2581] **실시예 14:**
- [2582] **표적 T 세포 아폽토시스의 CD45RC-CAR 유도**
- [2583] 재료 및 방법
- [2584] 총 T 세포는 인간 PBMC로부터의 자기 분류(Miltenyi Biotech)를 사용하여 음성적으로 분류되었다. 세포를 CPD 670으로 표지하고, 96 웰 바닥 V 플레이트에 플레이팅하였다(완전 배지 RPMI(10% SVF, 아미노산, 페니실린/스트렙토마이신, 글루타민, 나트륨 피루베이트, HEPES)에서 웰당 20,000개의 세포). 100,000개의 Jurkat 세포를 완전 DMEM 배지 중 96-웰 바닥 플레이트에 플레이팅하고, 실시예 13에 기재된 10uL의 CD45RC-CAR 또는 Ctrl-CAR 대조군 렌티바이러스 벡터로 형질도입하고, 37°C에서 2일 배양하였다. 이어서, Jurkat 세포를 계수하고, 완전 RPMI 배지에서 T:Jurkat 세포의 상이한 비율로 T 세포에 첨가하였다(비율 1:0 - 1:1 - 1:5 - 1:10). 세포를 37°C에서 18h 배양하였다. 배양 후, 세포를 20분 동안 아넥신 완충제 중의 아넥신 V로 표시하였다. DAPI를 아넥신 완충제에 첨가하고, 세포를 칸토 II 세포측정기(BD Biosciences)에서 직접 분석하였다.
- [2585] 결과
- [2586] 인간 T 세포를 Ctrl-CAR의 CD45RC-CAR로 이전에 형질도입된 Jurkat 세포의 존재하에 18시간 동안 배양한 다음, 아폽토시스를 유세포 계측법에 의해 평가하였다. CD45RC-CAR을 보유하는 Jurkat 세포의 존재하에, T 세포는 15% 세포사멸성이었고, Ctrl-CAR 또는 형질도입되지 않은 세포에서는 단지 7-8%였다(도 14). 관찰된 아폽토시스의 수준은 항-CD45RC 항체로 수득된 수준과 동등하였다. 따라서, CD45RC-CAR을 발현하는 Jurkat 세포는 인간 T 세포에서 아폽토시스를 유도할 수 있다.
- [2587] **실시예 15:**
- [2588] **T 세포 활성화의 CD45RC-CAR 유도**
- [2589] 재료 및 방법
- [2590] 총 T 세포는 인간 PBMC로부터의 자기 분류(Miltenyi Biotech)를 사용하여 음성적으로 분류하였다. 세포를 CPD 670으로 표지하고, 96 웰 바닥 V 플레이트에 플레이팅하였다(완전 배지 RPMI(10% SVF, 아미노산, 페니실린/스트렙토마이신, 글루타민, 나트륨 피루베이트, HEPES)에서 웰당 20,000개의 세포). 100,000개의 Jurkat 세포를 완전 DMEM 배지 중 96-웰 바닥 플레이트에 플레이팅하고, 실시예 13에 기재된 10uL의 CD45RC-CAR 또는 Ctrl-CAR 대조군 렌티바이러스 벡터로 형질도입하고, 37°C에서 2일 배양하였다. 이어서, Jurkat 세포를 계수하고, 완전 RPMI 배지에서 T:Jurkat 세포의 상이한 비율로 T 세포에 첨가하였다(비율 1:0 - 1:1 - 1:5 - 1:10). 세포를 37°C에서 18h 배양하였다. 배양 후, 세포를 20분 동안 항-CD69 mAb로 표시하였다. DAPI를 첨가하고, 세포를 칸토 II 세포측정기(BD Biosciences)에서 직접 분석하였다.
- [2591] 결과
- [2592] 인간 T 세포를 CD45RC-CAR 또는 Ctrl-CAR로 형질도입된 Jurkat 세포의 존재하에 18시간 동안 배양한 다음, T 세포 활성화를 CD69 활성화 마커를 사용하여 유세포 계측법에 의해 측정하였다.
- [2593] 본 발명자들은 CD45RC-CAR이 Ctrl-CAR 및 형질도입되지 않은 Jurkat 세포와 비교하여 T 세포 활성화(CD69 발현에 의해 나타낸 바와 같이)를 유도한다는 것을 관찰하였다. 흥미롭게도, 세포가 분류될 때, CD45RC-CAR이 모든 세포에 의해 발현되고, 활성화는 분류되지 않은 CD45RC-CAR Jurkat 세포에 비해 훨씬 더 우수하다는 것을 의미한다(도 15). 전체적으로, 이는 CAR이 기능적이라는 것을 나타냈다.
- [2594] **실시예 16:**
- [2595] **CD4⁺ Treg 활성화 및 표적 T 세포 아폽토시스의 CD45RC-CAR 유도**
- [2596] 재료 및 방법
- [2597] CD4⁺ Treg 렌티바이러스 형질도입 및 확장 프로토콜
- [2598] 0일째에, CD4⁺ CD127^{hi} CD25⁺ CD45RC⁻ Treg를 FACSria™ 상에서 분류하고, 이전에 1 µg/mL 항-CD3 모노클로날 항체(클론 OKT3)로 코팅된 96-웰 평저 플레이트에서 100 µL 배지당 10⁵ 세포에 시딩하였다. 0일째에 사용된 배지는 페니실린, 스트렙토마이신, 나트륨 피루베이트, HEPES 완충제, 아미노산, 글루타민, 5% CTS 혈청, 항-CD28

mAb(1 μ g/mL에서 클론 CD28.2) 및 1000U/mL IL-2로 보충된 RPMI 1640이었다. 1일째 및 2일째에, 세포는 항-CD45RC 키메라 항원 수용체(CD45RC-CAR) 및 GFP, 또는 상이한 항원 특이성을 갖는 대조군 CAR(Ctrl-CAR) 및 LNGFR을 코딩하는 실시예 13에 기재된 렌티바이러스 벡터 10 μ L로 형질도입하였다. 3일째에, 배지를 첨가하여 10% CTS 혈청 최종 농도에 도달하였다. 7일째에, 세포를 수거하고, GFP 또는 LNGFR에 기초하여 CAR 발현에 대해 분류한 다음, 확장 7일의 두 번째 라운드 동안 항-CD3 및 항-CD28 mAb로 새롭게 자극하였다. 사이토카인을 2일마다 배양 배지에 새로 첨가하고, 필요할 때 신선한 배지를 첨가하였다.

[2599] CD45RC-CAR 검출

[2600] HEK 293T 세포는 또한 1일째에 1회 CD45RC-CAR을 인코딩하는 렌티바이러스로 형질도입되었다. CD4⁺ Treg는 상기 설명된 바와 같이 렌티바이러스로 형질도입되었다. HEK 293T 및 CD4⁺ Treg는 마지막 형질도입 5일 후에 분석되었다. 세포를 인간 Fc 블록(BD Biosciences)으로 처리한 다음, 4°C에서 1시간 동안 PBS BSA 1%로 희석된 인 하우스 비오틴화된 CD45R-ABC 단백질(R&D) 2 μ g/mL와 함께 배양하였다. CD45R-ABC-비오틴 단백질은 4 μ g/mL에서 스트렙타비딘-APC-Cy7로 밝혀졌다. DAPI를 첨가하여 죽은 세포를 배제하고, 세포를 FACSCanto™에서 분석하였다.

[2601] CAR-매개 활성화 검증

[2602] 총 10⁵개의 CD45RC-CAR CD4⁺ Treg 또는 Ctrl-CAR CD4⁺ Treg를 완전 배지 RPMI(10% CTS 혈청, 아미노산, 페니실린/스트렙토마이신, 글루타민, 나트륨 피루베이트, HEPES)에서 CD45R-ABC 단백질(PBS 중 1 μ g/mL, 37°C에서 1시간 30분)로 이전에 코팅된 96-웰 U-바닥 플레이트에 플레이팅하였다. 세포를 37°C에서 24시간 배양하고, 브레펠딘 A를 배양 마지막 4시간 동안 첨가하였다. 배양 후, 세포를 생존성 염료로 표시하고, 30분 동안 항-CD69, 항-CD25, 항-CD71 mAb로 세포의 염색하였다. 세포를 고정시키고, 투과시키고, 1시간 동안 항-CTLA-4 mAb로 세포내 염색하였다. 세포를 FACSCanto™에서 분석하였다.

[2603] 아포토시스 검증

[2604] 인간 PBMC를 CPD670으로 표지하고, 완전 배지 RPMI(10% 인간 AB 혈청, 아미노산, 페니실린/스트렙토마이신, 글루타민, 나트륨 피루베이트, HEPES)에서 96 웰 V-바닥 플레이트(웰당 50,000개 세포)에 플레이팅하였다. 형질도입되지 않거나 CD45RC-CAR 또는 Ctrl-CAR로 형질도입된 CD4⁺ Treg를 15일 확장 후에 계수하고, 완전 RPMI 배지에서 PBMC:Treg의 상이한 비율로 동종 PBMC에 첨가하였다(비율 1:0 - 1:1 - 1:2 - 1:5). 세포를 37°C에서 4시간 배양하였다. 배양 후, 세포를 항-CD3, 항-CD19, 항-CD14, 항-CD56 및 항-CD45RA mAb로 염색한 다음, 세포를 20분 동안 아넥신 완충제 중 아넥신 V로 표시하였다. DAPI를 아넥신 완충제에 첨가하고, 세포를 FACSCanto™에서 신속하게 분석하였다. 항-CD45RA mAb를 각 세포 서브세트에서 CD45RC⁺ 세포의 동정을 위한 대리 마커로서 사용하였다. 아포토시스의 대조군으로서, ABIS-45RC를 10 μ g/mL로 PBMC와 함께 배양하였다. 총 아포토시스 세포의 백분율은 아넥신⁺ DAPI⁺ 세포와 아넥신⁺ DAPI⁻ 세포의 합에 의해 계산되었다.

[2605] 결과

[2606] 인간 HEK 293을 CD45RC-CAR 및 GFP를 인코딩하는 렌티바이러스 벡터로 형질도입하고, 세포형광 측정법에 의해 분석하였다(도 16). 비오틴으로 표지되고 스트렙타비딘-APC-Cy7로 밝혀진 CD45R-ABC 단백질을 사용한 CD45RC-CAR 검출은 형질도입되지 않은 세포와 비교하여 명확한 양성 신호와 GFP와의 공동발현을 나타냈으며, 이는 CD45RC-CAR이 발현되고, CD45RC에 대한 그의 특이성에서 기능적임을 입증한다.

[2607] CD45RC-CAR을 사용한 CD4⁺ Treg의 형질도입 및 7일째에 GFP를 사용하는 세포 분류 선택에 이어 14일 동안 시험관내 확장은 형질도입된 세포의 74.38% +/- 17.3%의 집단의 획득을 허용하였고(도 17), CD4⁺ Treg가 형질도입될 수 있고 CD45RC-CAR CD4⁺ Treg가 확장될 수 있음을 입증한다.

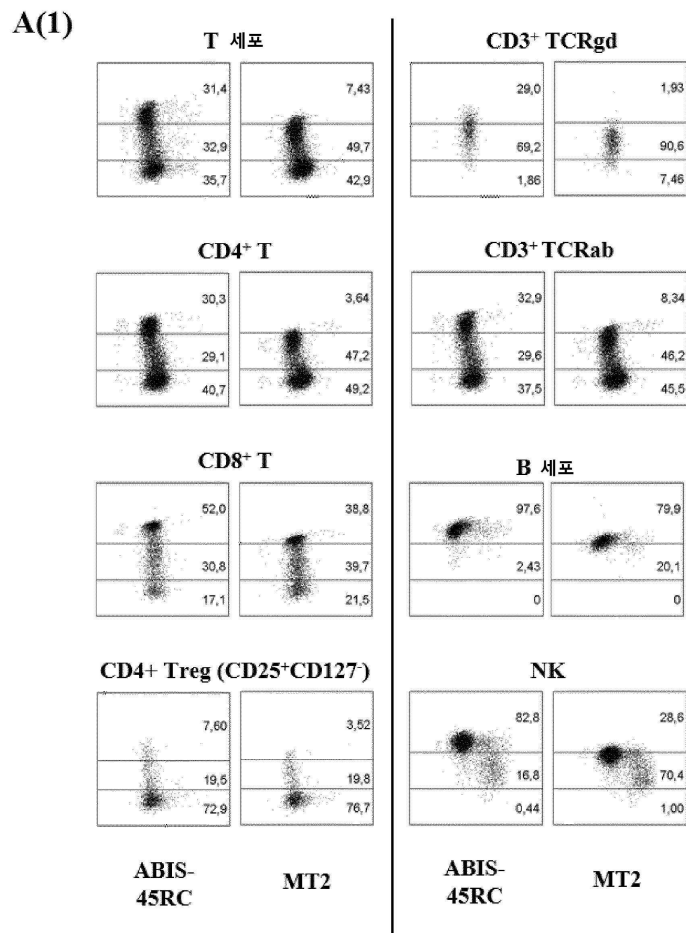
[2608] 그 후, 본 발명자들은 세포를 CD45R-ABC 단백질과 함께 배양하고 세포형광 측정법에 의해 활성화 마커를 분석함으로써 CD45RC-CAR 형질도입되고 확장된 CD4⁺ Treg의 활성화를 분석하였다(도 18). 그들은 Ctrl-CAR에 의해서가 아니라 CD45RC-CAR에 의해 형질도입된 CD4⁺ Treg에서 24시간 동안 CD45R-ABC 단백질과 함께 배양시 CD69, CD25, CD71 및 CTLA-4의 단백질 발현 증가를 관찰하였고, CAR이 신호전달하고 Treg를 직접 활성화시킨다는 것을 입증한다.

[2609] 확장 14일 후 동종 CAR 형질도입되거나 형질도입되지 않은 $CD4^+$ Treg에 의한 PBMC의 상이한 세포 집단에 대한 아폽토시스를 분석하고, CD45RC-CAR을 생성하는데 사용된 항-CD45RC mAb로 수득된 아폽토시스와 비교하였다(도 19). 본 발명자들은 CD45RC-CAR-형질도입된 $CD4^+$ Treg가 아폽토시스를 유도하지 않은 Ctrl-CAR 및 형질도입되지 않은 $CD4^+$ Tregs와는 대조적으로 항-CD45RC mAb와 동등한 $CD45RC^{hi}$ T 세포의 아폽토시스를 유도했음을 관찰하였다. CD45RC-CAR $CD4^+$ Treg의 이러한 아폽토시스 효과는 투여량 의존적이었으며, PBMC: $CD4^+$ Treg의 비율이 높을수록 증가하였다.

[2610] 전체적으로, 이들 결과는 CD45RC-CAR이 CD45RC-CAR-형질도입된 $CD4^+$ Treg의 활성화를 유도하기 때문에 기능적이라는 것을 보여주었다. 더욱이, CD45RC-CAR-형질도입된 $CD4^+$ Treg는 $CD45RC^{hi}$ T 세포의 아폽토시스를 유도하였다.

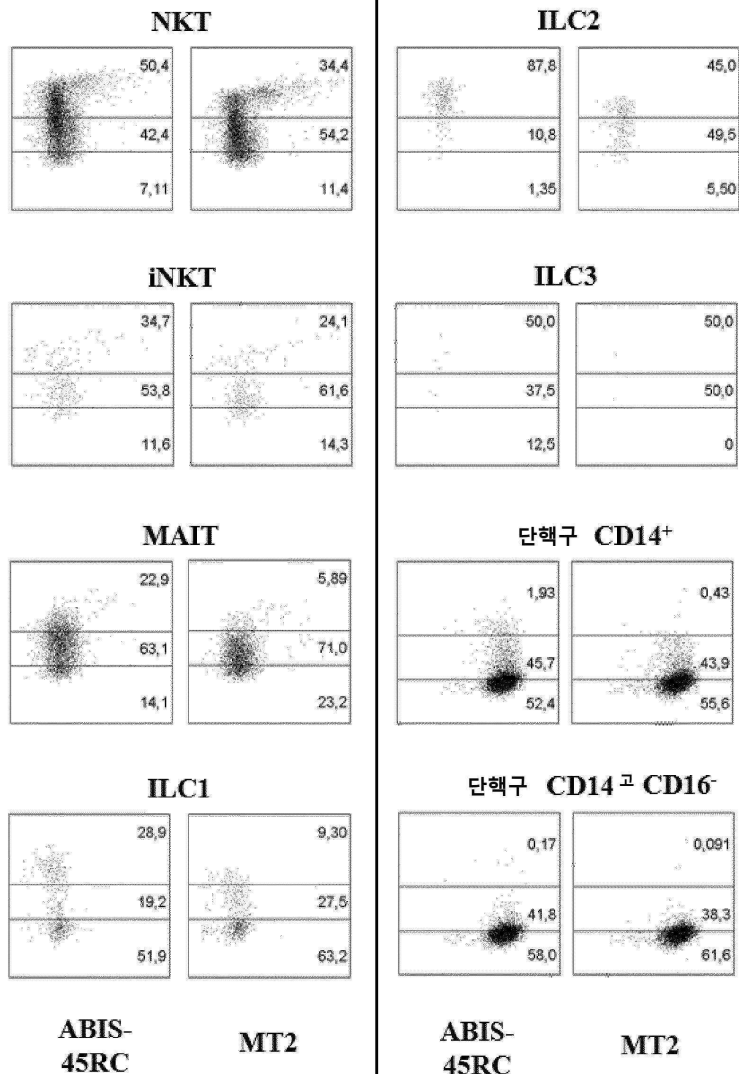
도면

도면1a



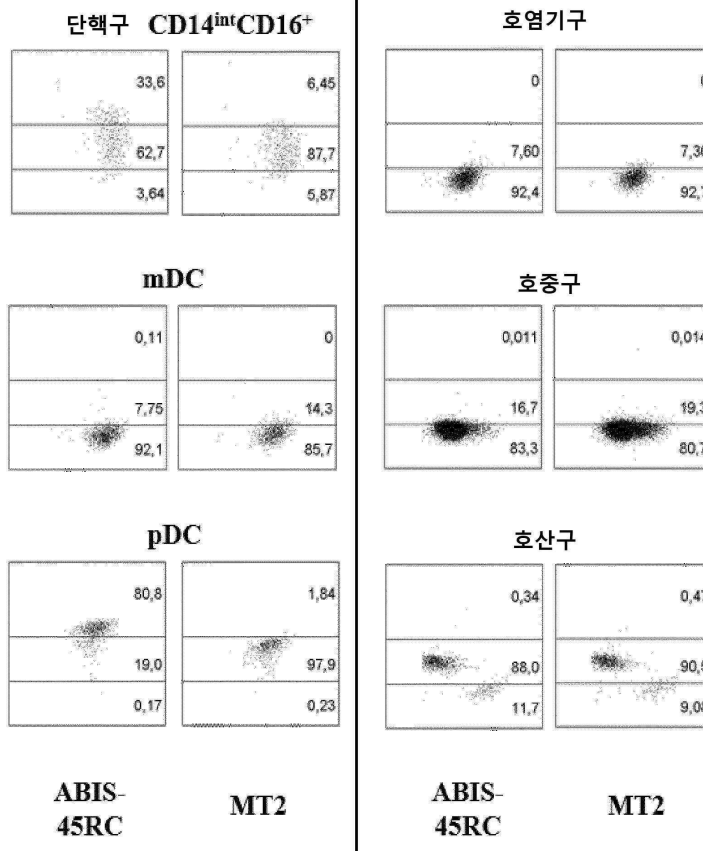
도면1b

A(2)



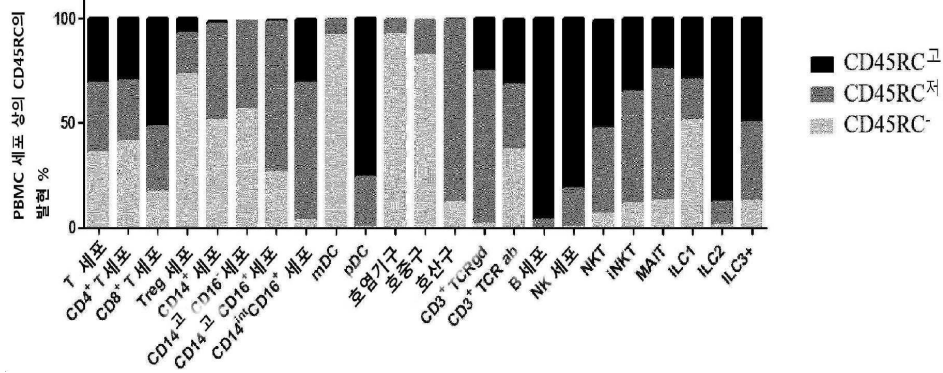
도면1c

A(3)



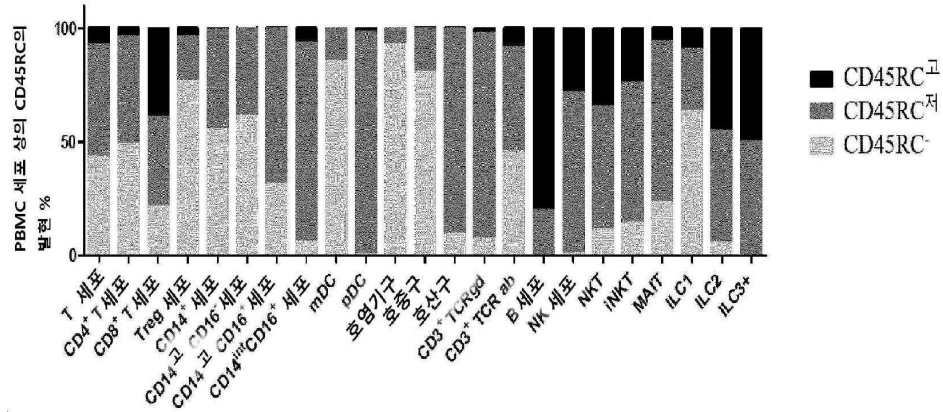
도면1d

B(1)

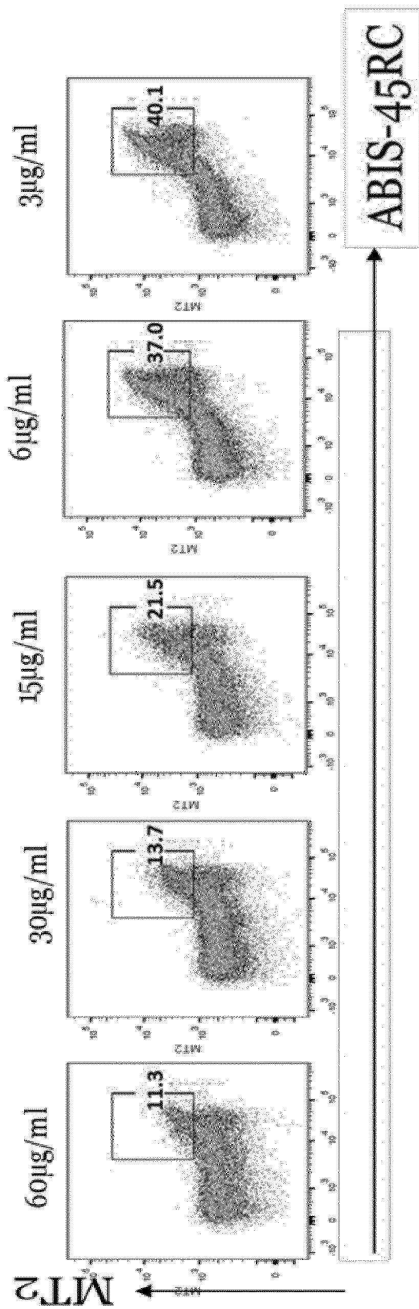


도면1e

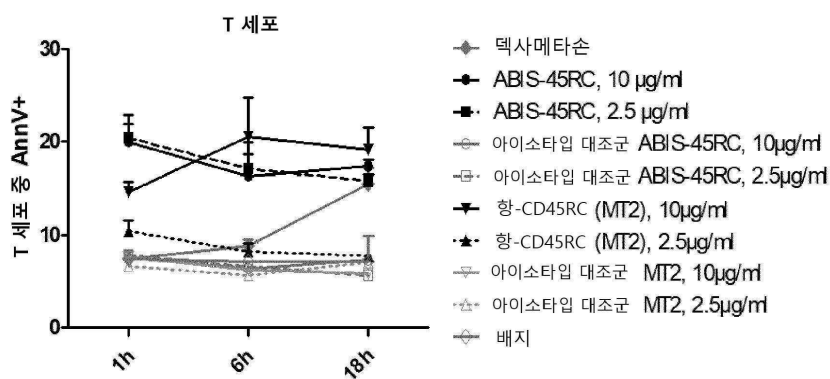
B(2)



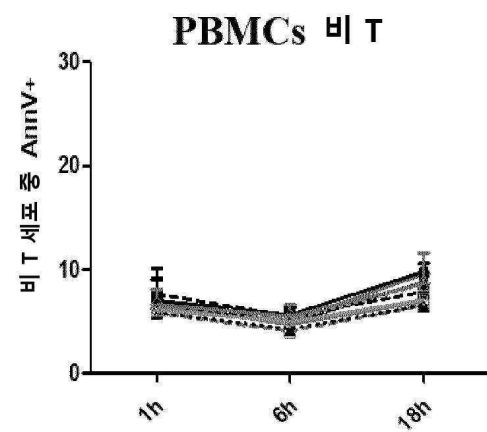
도면2



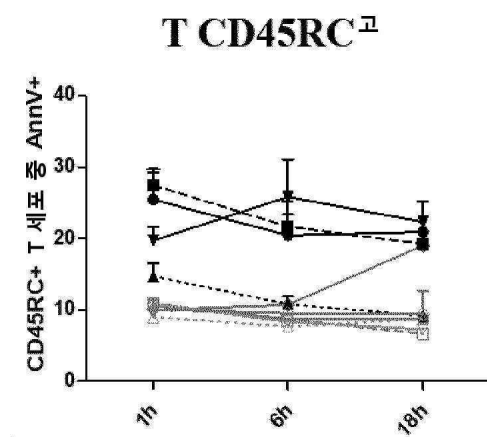
도면3a



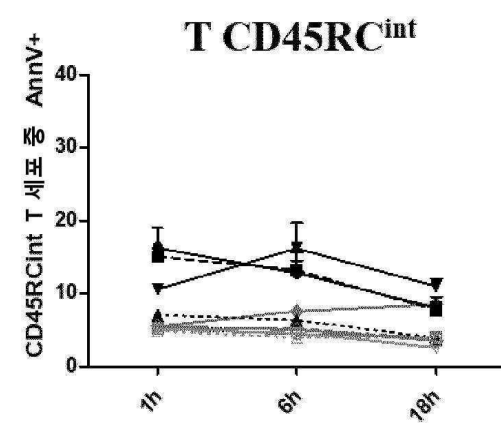
도면3b



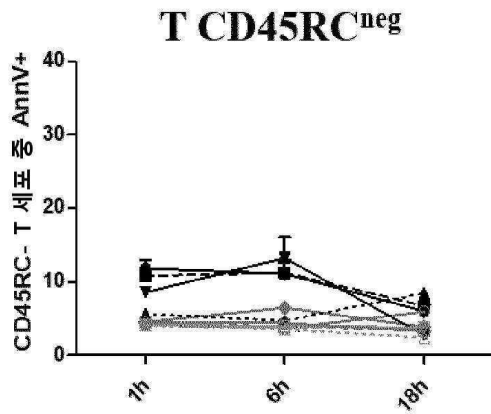
도면3c



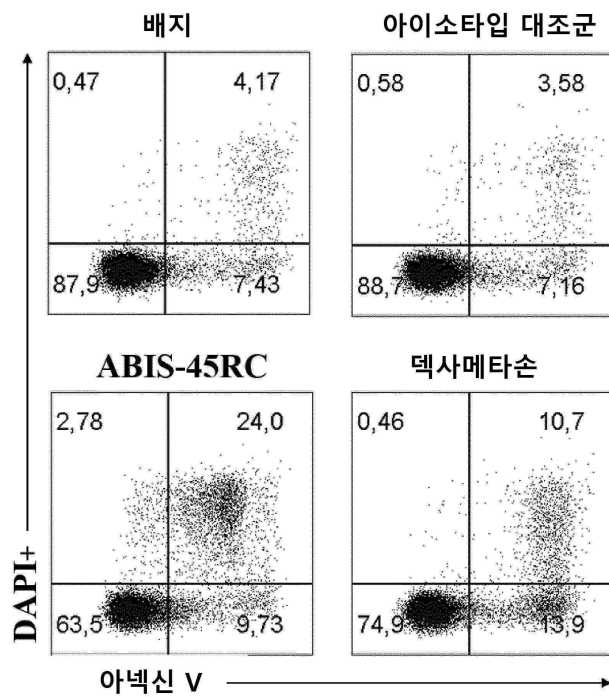
도면3d



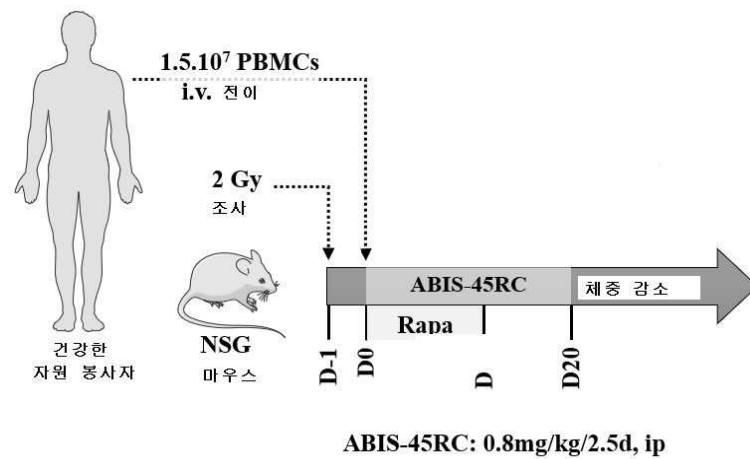
도면3e



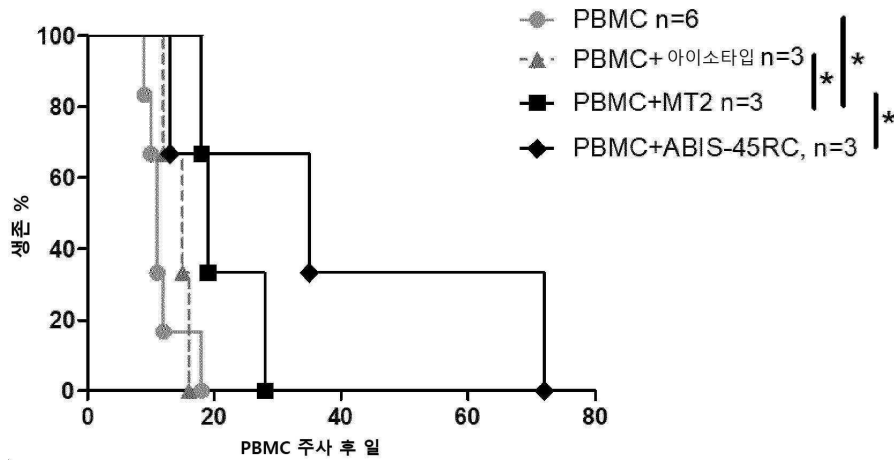
도면3f



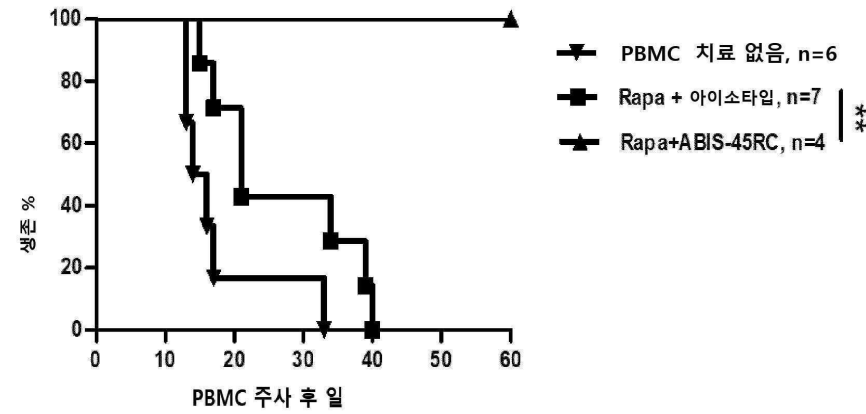
도면4a



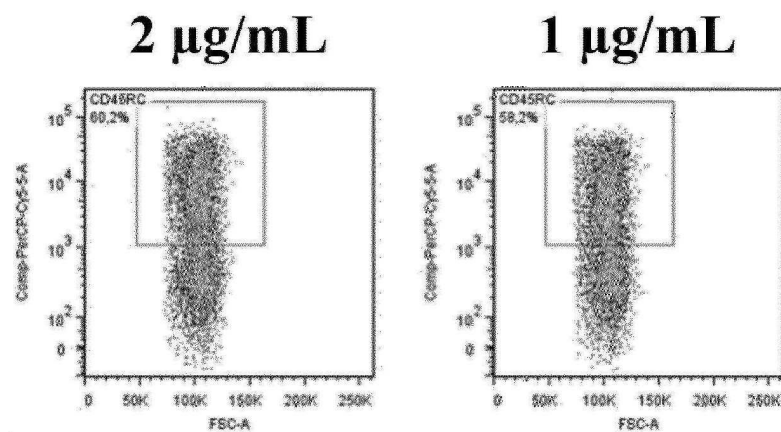
도면4b



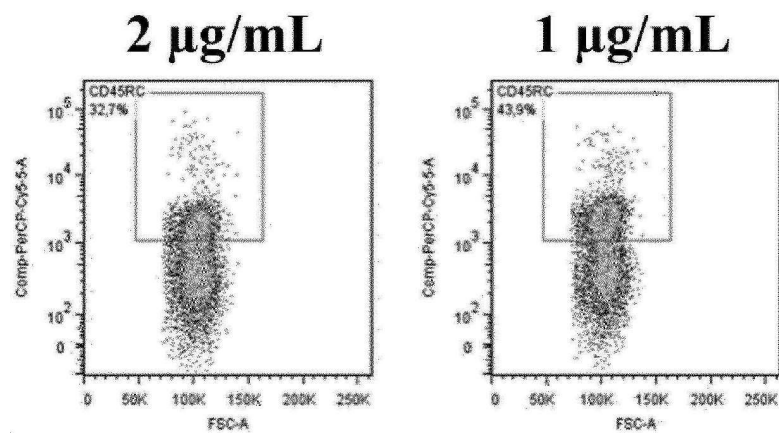
도면4c



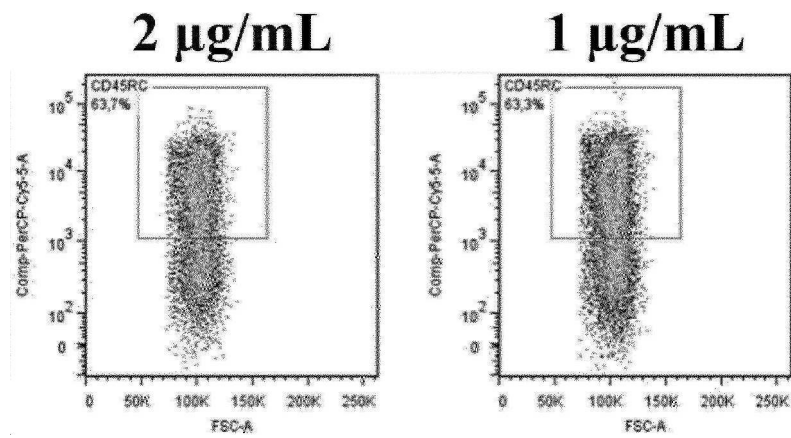
도면5a



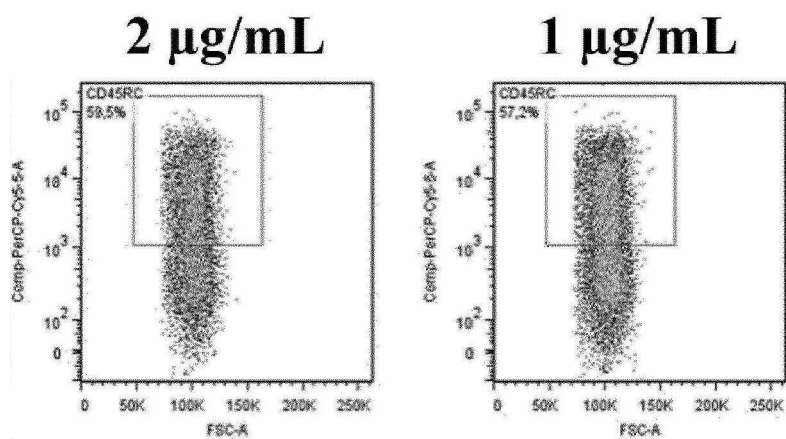
도면5b



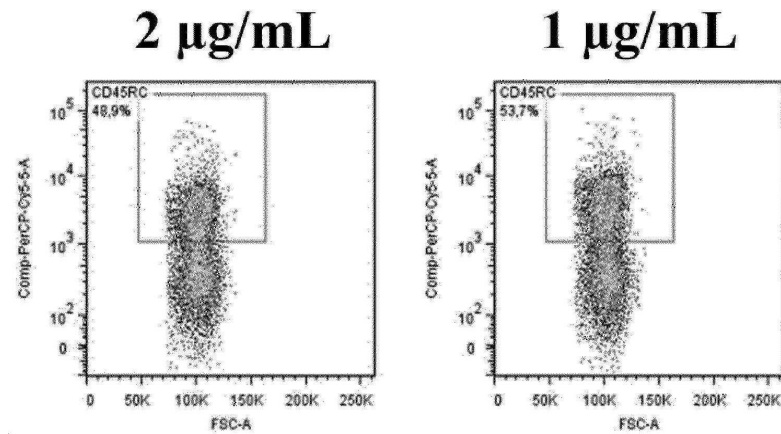
도면5c



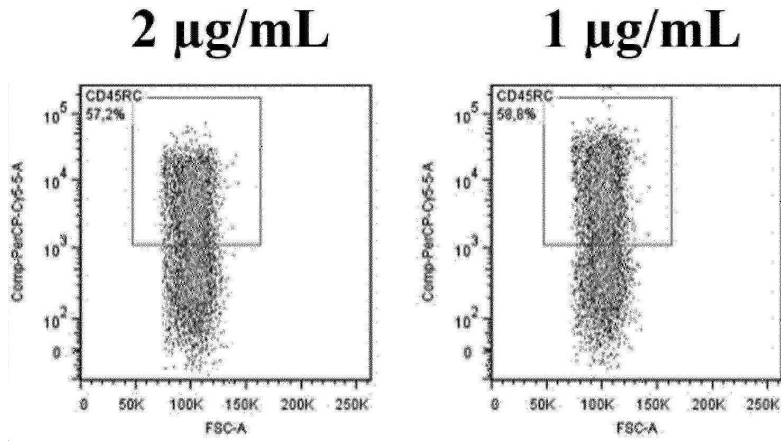
도면5d



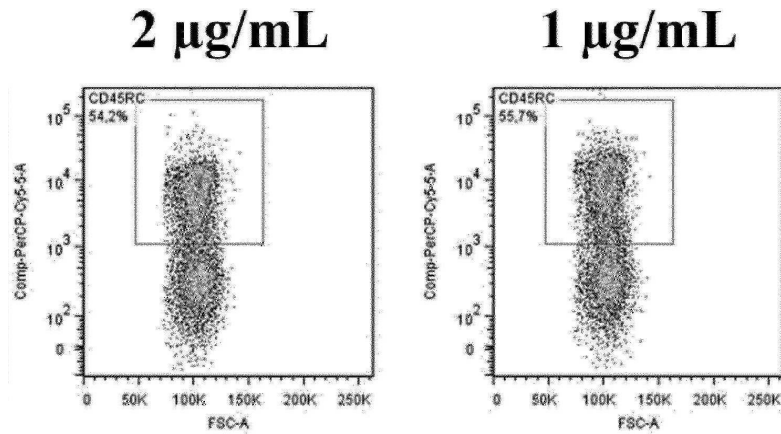
도면5e



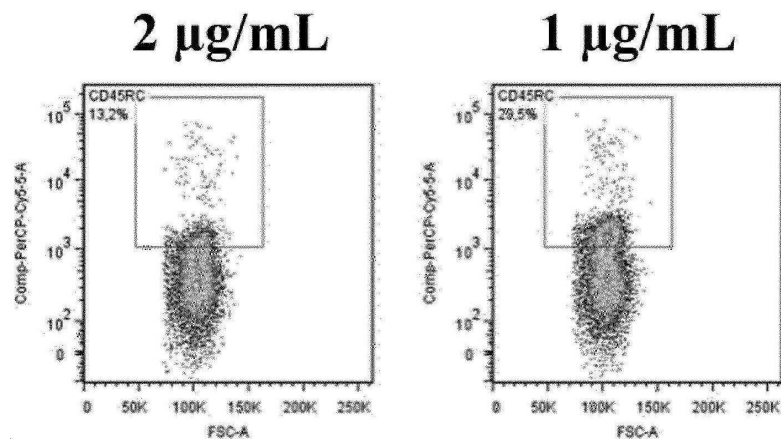
도면5f



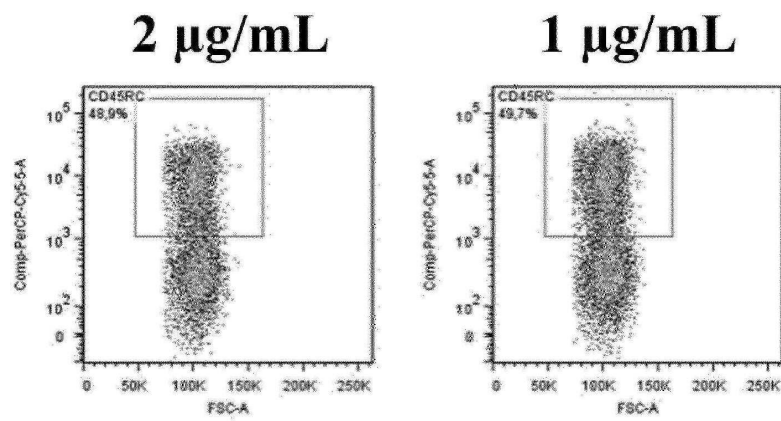
도면5g



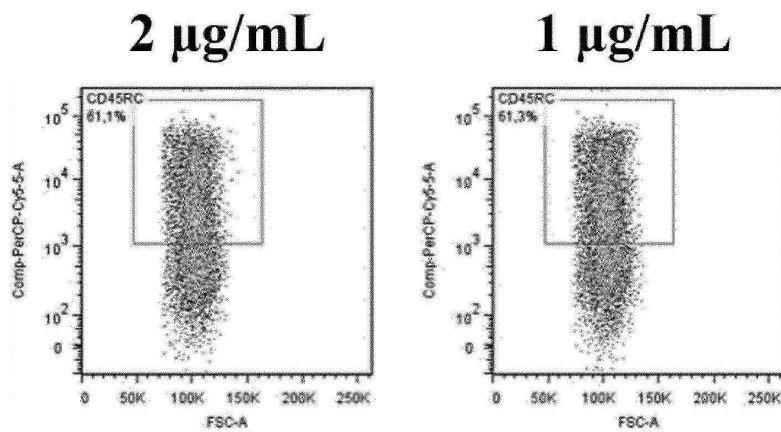
도면5h



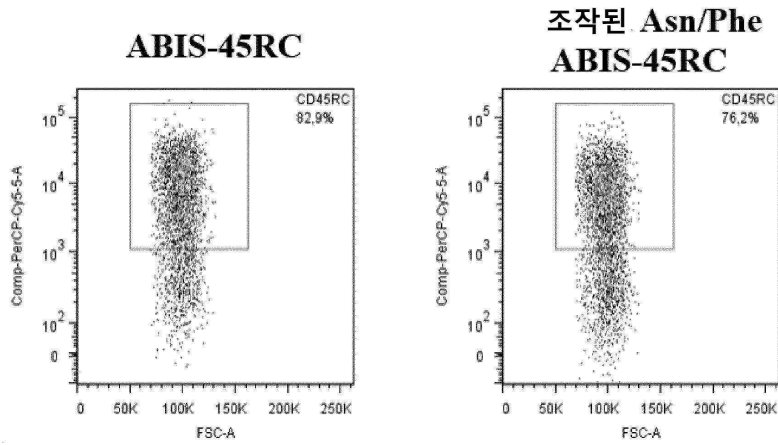
도면5i



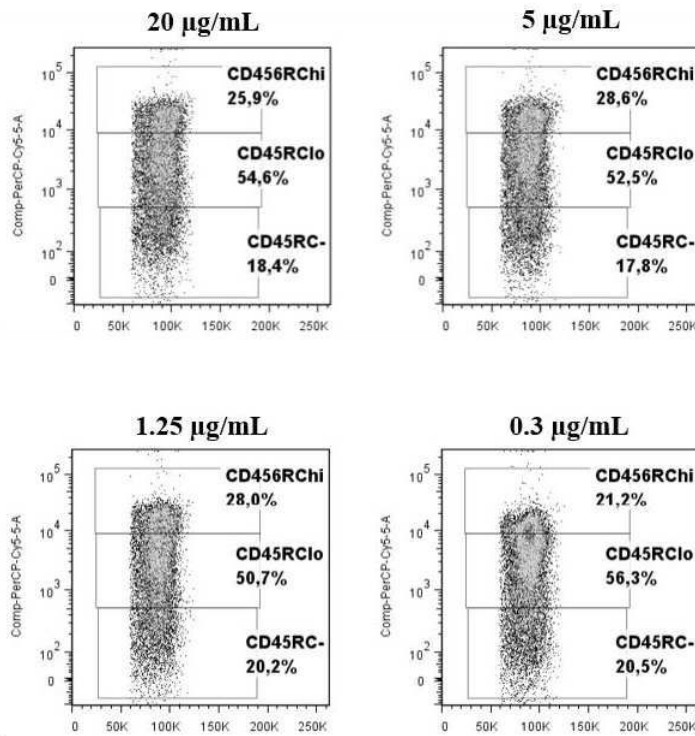
도면5j



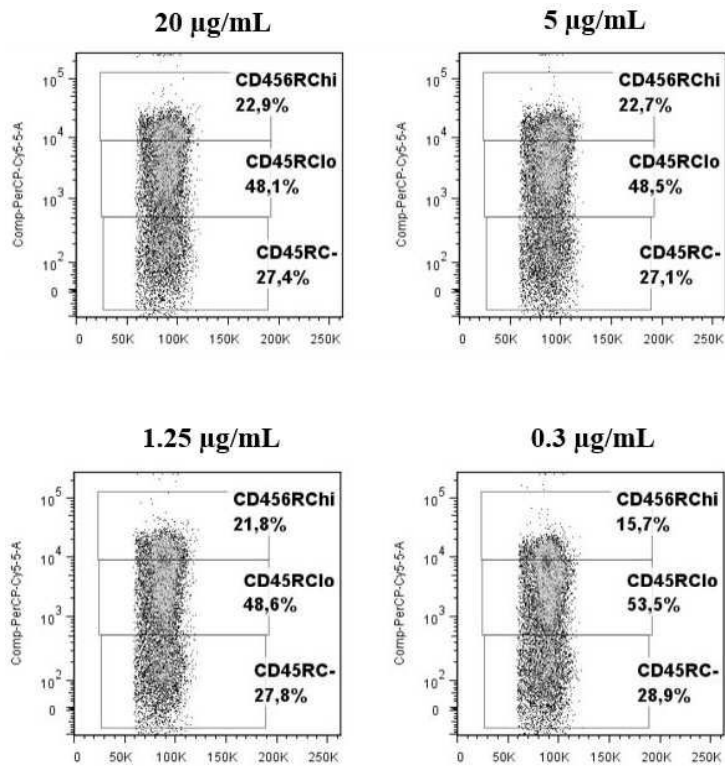
도면6



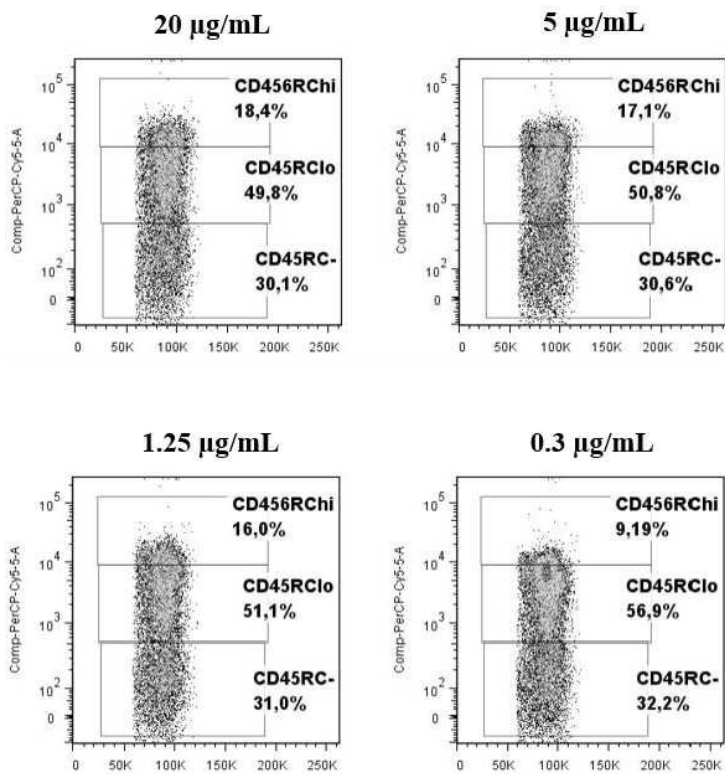
도면7a



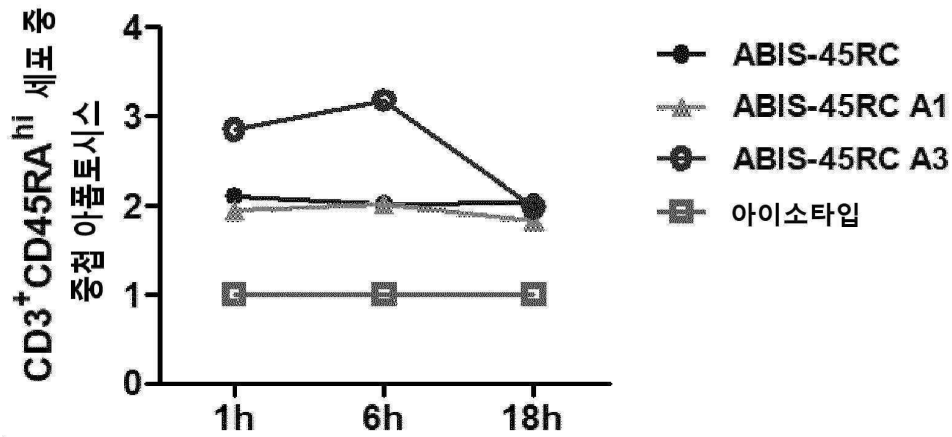
도면7b



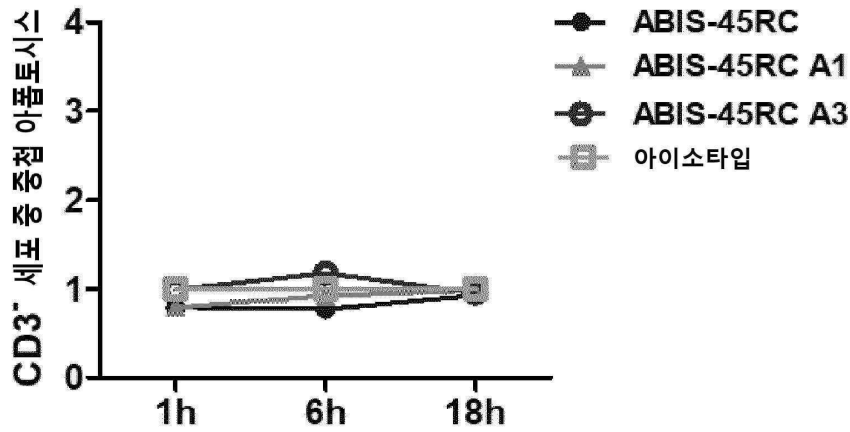
도면7c



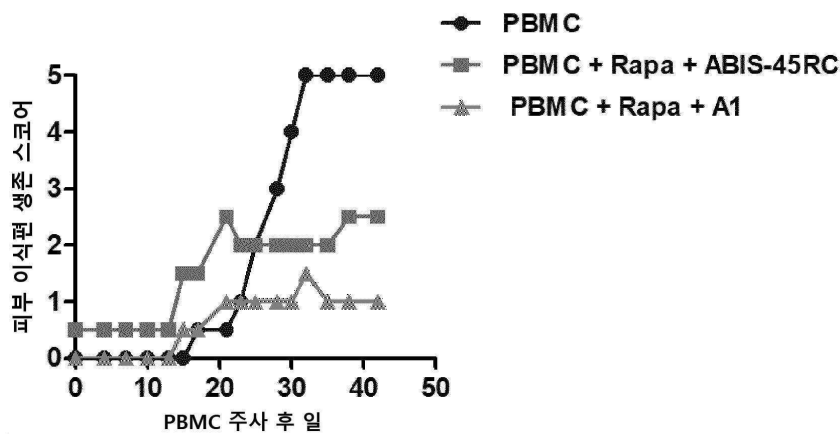
도면8a



도면8b



도면9



도면10

CAR 구조

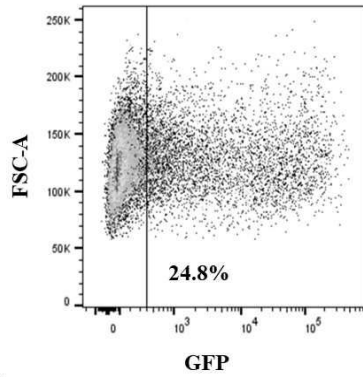
N	세포외 결합 도메인	힌지 도메인	TM 도메인	공동자극 도메인(들)	1차 신호전달 도메인(들)	C

CD45RC-CAR

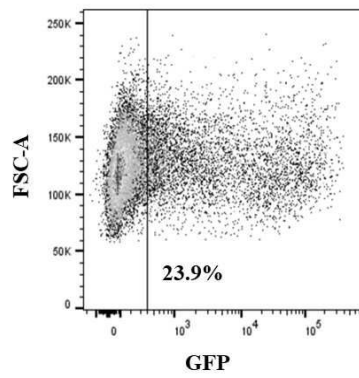
N	scFv CD45RC	CD8	CD8	CD28	CD3 ζ	C

도면11

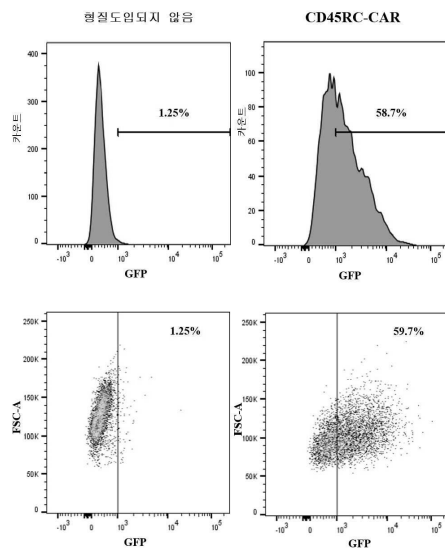
CD45RC-CAR 플라스미드



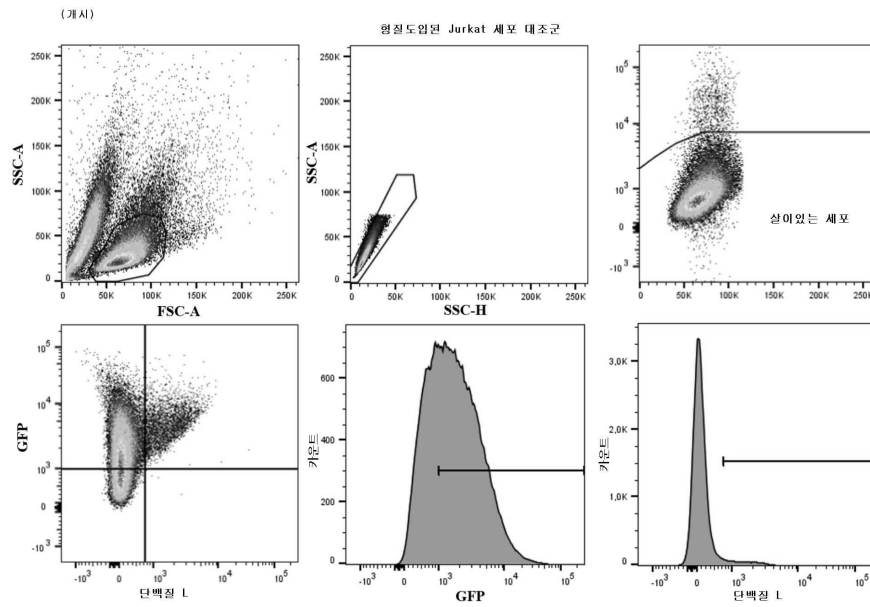
GFP 플라스미드



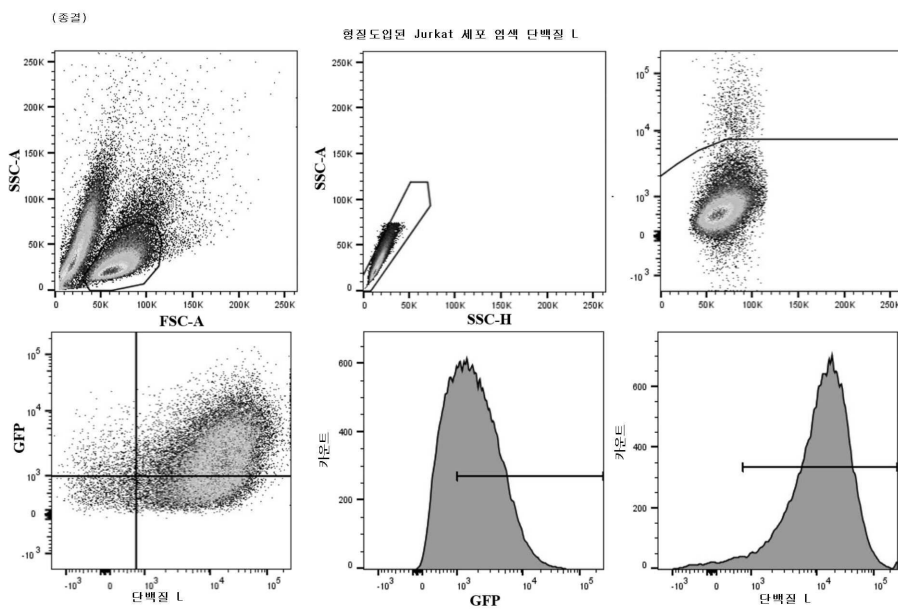
도면12



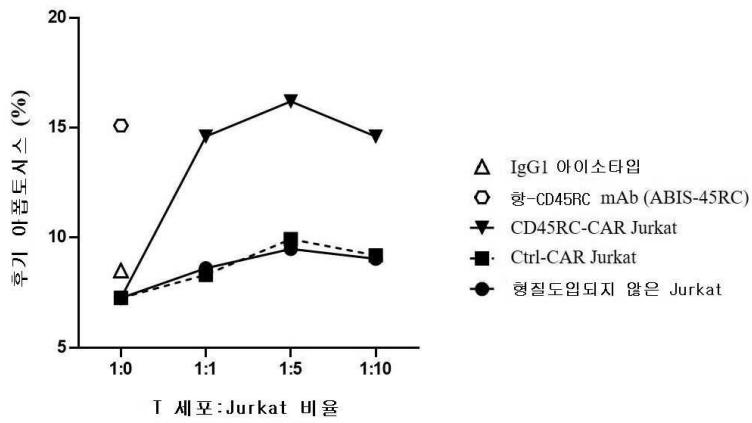
도면13a



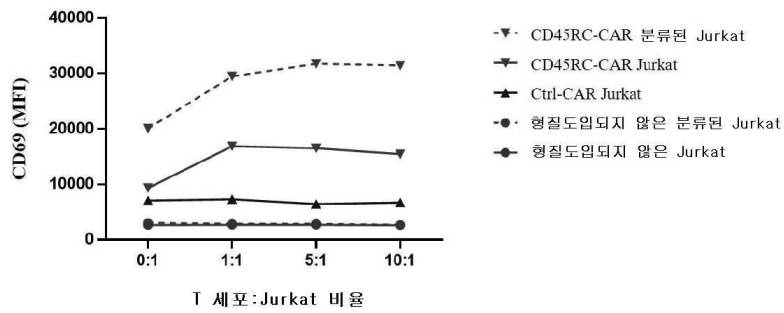
도면13b



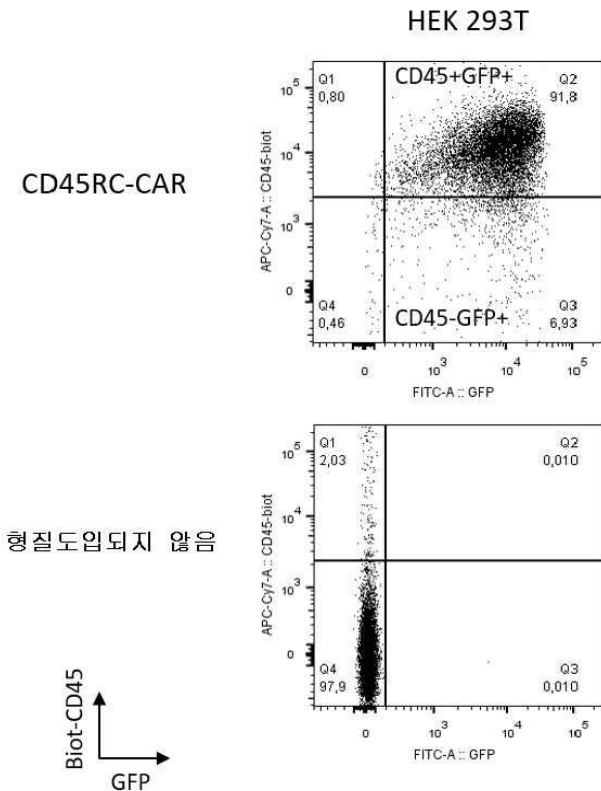
도면14



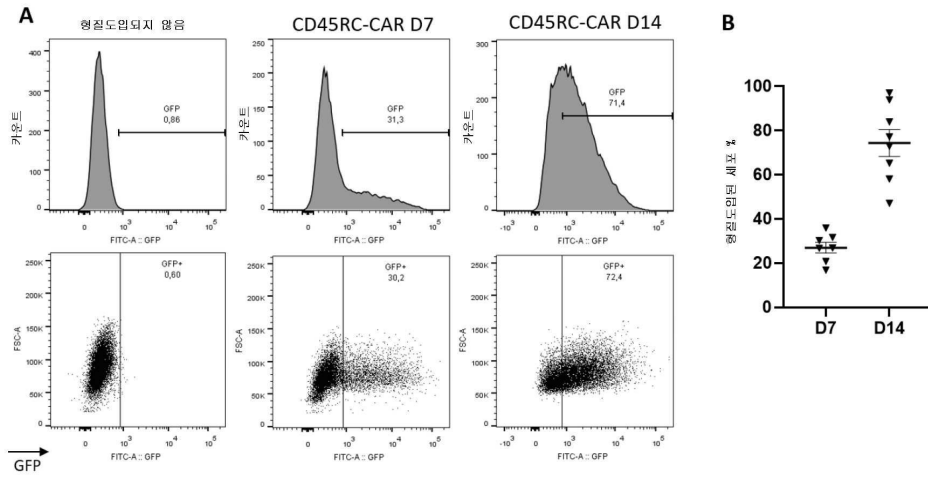
도면15



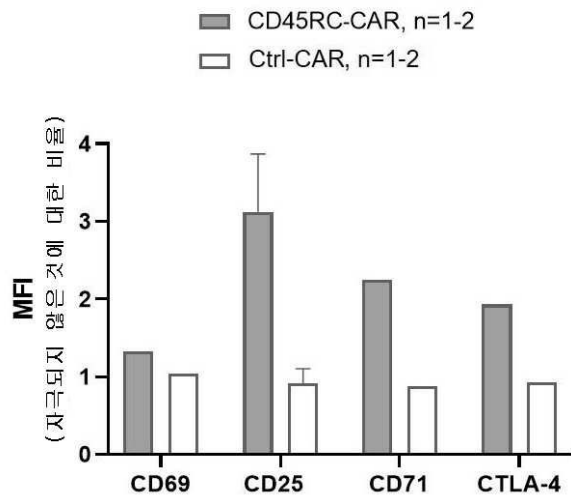
도면16



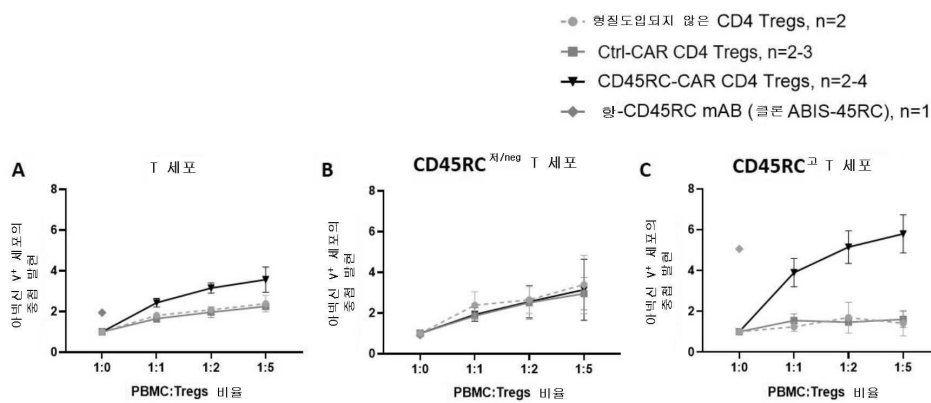
도면17



도면18



도면19



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale)
UNIVERSITÉ DE NANTES

<120> CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR SPECIFIC FOR HUMAN CD45RC AND USES THEREOF

<130> IBIO-1475/PCT

<150> EP20305298.0

<151> 2020-03-20

<160> 173

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR1

<400> 1

Asn Tyr Tyr Ile Gly

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa is selected from Asp (D), Ile (I) and Arg (R)

<220>

<223> VH-CDR2

<220>

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa is selected from Pro (P) and Ser (S)

<220>

<221> SITE

<222> 7

<223> Xaa is selected from Asp (D), Ser (S) and Gly (G)

<220>

<221> SITE

<222> 9

<223> Xaa is selected from Ala (A) and Thr (T)

<220>

<221> SITE

<222> 11

<223> Xaa is selected from Ser (S) and Tyr (Y)

<220>

<221> SITE

<222> 12

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ala (A) and Ser (S)

<220>

<221> SITE

<222> 13

<223> Xaa is selected from Glu (E), Asp (D), Pro (P) and Gln (Q)

<220>

<221> SITE

<222> 14

<223> Xaa is selected from Lys (K) and Ser (S)

<220>

<221> SITE

<222> 15

<223> Xaa is selected from Phe (F) and Val (V)

<220>

<221> SITE

<222> 16

<223> Xaa is selected from Lys (K) and Gln (Q)

<400> 2

Xaa Ile Phe Xaa Gly Gly Xaa Tyr Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

15

Gly

<210> 3

<

211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR3

<400> 3

Arg Asn Phe Asp Tyr

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 4

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Asn Ser Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 5

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Asn Ser Asn Glu Lys Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 6

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 7

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Glu Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 8

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

1 5 10 15

Gly

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 9

Arg Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 10

<211>

17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 10

Ile Ile Phe Pro Gly Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 11

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

1 5 10 15

Gly

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa is selected from Ser (S) and Arg (R)

<220>

<223> VL-CDR1

<220>

<221> SITE

<222> 8

<223> Xaa is absent, or is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 12

Xaa Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr Met His

1 5 10

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa is selected from Asn (N) and Ala (A); or Xaa is any amino
acid but Ala (A) or Asn (N)

<220>

<223> VL-CDR2

<220>

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa is selected from Leu (L), Ser (S) and Arg (R)

<220>

<221> SITE

<222> 6

<223> Xaa is selected from Pro (P), Ala (A) and Gln (Q)

<220>

<221> SITE

<222> 7

<223> Xaa is selected from Ser (S) and Thr (T)

<400> 13

Xaa Thr Ser Asn Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa is selected from Gln (Q) and His (H)

<220>

<223>

> VL-CDR3

<400> 14

Xaa Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR1

<220>

<221> SITE

<222> 8

<223> Xaa is absent or is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 15

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr Met His

1 5 10

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR2

<400> 16

Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser

1 5

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR3

<400> 17

Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR1

<220>

<221> SITE

<222> 8

<223> Xaa is absent or is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 18

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr Met His

1 5 10

<210>

19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR2

<400> 19

Asn Thr Ser Asn Ser Pro Ser

1 5

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR2

<400> 20

Ala Thr Ser Asn Leu Gln Ser

1 5

<210> 21

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR3

<400> 21

His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe

1 5 10

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR2

<400> 22

Asn Thr Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 23

<211> 48

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> C determinant of hCD45RC

<400> 23

Asp Val Pro Gly Glu Arg Ser Thr Ala Ser Thr Phe Pro Thr Asp Pro

1 5 10 15

Val Ser Pro Leu Thr Thr Thr Leu Ser Leu Ala His His Ser Ser Ala

20 25 30

Ala Leu Pro Ala Arg Thr Ser Asn Thr Thr Ile Thr Ala Asn Thr Ser

35 40 45

<210> 24

<211> 144

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Exon 6 of hCD45RC

<400> 24

gatgtcccag gagagaggag tacagccagc acctttccta cagaccagcag tccccattg 60

acaaccaccc tcagccttgc acaccacagc tctgctgctt tacctgcacg cacctccaac 120

accaccatca cagcgaacac ctca 144

<210> 25

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR1

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 26

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR2

<400> 26

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 27

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR3

<400> 27

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR4

<400> 28

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 29

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR1

<400> 29

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 30

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR2

<400> 30

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

1 5 10

<210> 31

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR3

<400> 31

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

1 5 10 15

Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys Val Arg

20 25 30

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR4

<400> 32

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 33

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR1

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR2

<400> 34

Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 35

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR3

<400> 35

Gln Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 36

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR1

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR2

<400> 37

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

1 5 10

<210> 38

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR3

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 39

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR1

<400> 39

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr

20 25 30

<210> 40

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR1

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 41

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR3

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 42

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR1

<400> 42

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr

20 25 30

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-FR2

<400> 43

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

1 5 10

<210> 44

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR1

<400> 44

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR2

<400> 45

Trp Phe Gln Gln Lys Thr Gly Thr Ser Pro Arg Leu Trp Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 46

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR3

<220>

<221> SITE

<222> 15

<223> Xaa is selected from Tyr (Y) and Phe (F)

<400> 46

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Xaa Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR4

<400> 47

Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

1 5

<210> 48

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR1

<400> 48

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR2

<400> 49

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

1 5 10 15

<210> 50

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR3

<220>

<221> SITE

<222> 15

<223> Xaa is selected from Tyr (Y) and Phe (F)

<400> 50

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Xaa Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210>

51

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR4

<400> 51

Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5

<210> 52

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR1

<400> 52

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 53

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR2

<400> 53

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 54

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR3

<220>

<221> SITE

<222> 15

<223> Xaa is selected from Tyr (Y) and Phe (F)

<400> 54

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Xaa Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 55

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR1

<400> 55

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR2

<400> 56

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Trp Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 57

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR3

<220>

<221> SITE

<222> 15

<223> Xaa is selected from Tyr (Y) and Phe (F)

<400> 57

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Xaa Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

<210>

58

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR2

<400> 58

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

1 5 10 15

<210> 59

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-FR2

<400> 59

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 60

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> VL-FR2

<400> 60

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

1 5 10 15

<210> 61

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Murine HCVR

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Asn Ser Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 62

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 62

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Asn Ser Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Ser Ser

<210> 63

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 63

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Asn Ser Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 64

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Asn Ser Asn Glu Lys Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 65

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 66

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 66

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

Val Arg Arg Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 67

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 67

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

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

Val Arg Arg Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser

<210> 68

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 68

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 69

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 69

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Phe Pro Gly Gly Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Ser Ser

<210> 70

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 70

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

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

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

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

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

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 71

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Murine LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 71

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Thr Gly Thr Ser Pro Arg Leu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Phe Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 72

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 72

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 73

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 73

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 74

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 75

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 75

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30
Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 76

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 76

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Ser Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 77

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 78

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 78

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

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

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 79

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 79

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

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

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 80

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 80

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 81

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Murine LCVR

<400> 81

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Thr Gly Thr Ser Pro Arg Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 82

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 82

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

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

<210> 83

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 83

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

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

<210> 84

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 84

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

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

<210> 85

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 85

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

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

65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 86

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 86

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asn Thr Ser Asn Ser Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 87

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu

65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 88

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 88

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 89

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Humanized LCVR

<400> 89

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

Asn Thr Ser Asn Ser Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

$\langle 210 \rangle$ 90

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Humanized LCVR

<400> 90

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Trp Ile Tyr
 35 40 45
 Asn Thr Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 91

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human HCCR

<400>

> 91

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

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

 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

330

<210> 92

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human LCCR

<400> 92

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35

40

45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100

105

<210> 93

<211> 323

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Murine HCCR

<400> 93

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

1 5 10 15

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60
 Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80
 Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95
 Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro
 100 105 110
 Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
 115 120 125
 Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser
 130 135 140
 Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
 145 150 155 160
 Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 165 170 175
 Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn
 180 185 190
 Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro
 195 200 205
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln
 210 215 220
 Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val
 225 230 235 240
 Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val
 245 250 255
 Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln
 260 265 270
 Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn

275 280 285
Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val
290 295 300
Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His

305 310 315 320
Ser Pro Gly

<210> 94

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Murine LCCR

<400> 94

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

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

<210> 95

<211> 342

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Murine HCVR

<400> 95

caggtccagc tgcaacagtc tggcgtgag ctggtaggc ctgggacttc agtgaagatg	60
tcctgcaagg ccgtggata caccttcact aactactaca taggttgggt aaagcagagg	120
cctggacatg gccttgagtg gatcggagat attttccctg gaggtgacta tgccaacagc	180
aatgagaagt tcaagggcaa agccacactg actgcagaca catcctccag cacagcctac	240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgccatct attactgtgt gagaaggaac	300
tttgactact ggggccaagg caccactctc acagtgtcct ca	342

<210> 96

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Murine LCVR

<400> 96

caaattgttc tcaccagtc tccaacaatc atgtctgcat ctccaggga gaaggtgacc	60
ataacctgca gtgccagctc aagtgtagt tacatgcact ggttcagca gaagacaggc	120
acttctccca gactctggat ttataacaca tccaacctgc cttctggagt ccccgtcgc	180
ttcagtggca gtggatctgg gacctcttac tctctcaca tcagccgaat ggaggtgaa	240
gatgtgcca cttattactg ccagcaaagg agtagttacc cactcacgtt cgggtgctggg	300
accaagctgg agctgaaa	318

<210> 97

<400> 97

000

<210> 98

<400> 98

000

<210> 99

<211> 1306

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> hCD45

<300>

<308> UniProt Accession P08575-3

<309> 2018 03 28

<400> 99

Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe
1 5 10 15

Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro
20 25 30

Thr Gly Leu Thr Thr Ala Lys Met Pro Ser Val Pro Leu Ser Ser Asp
35 40 45

Pro Leu Pro Thr His Thr Thr Ala Phe Ser Pro Ala Ser Thr Phe Glu
50 55 60

Arg Glu Asn Asp Phe Ser Glu Thr Thr Thr Ser Leu Ser Pro Asp Asn
65 70 75 80

Thr Ser Thr Gln Val Ser Pro Asp Ser Leu Asp Asn Ala Ser Ala Phe
85 90 95

Asn Thr Thr Gly Val Ser Ser Val Gln Thr Pro His Leu Pro Thr His

100 105 110
Ala Asp Ser Gln Thr Pro Ser Ala Gly Thr Asp Thr Gln Thr Phe Ser

115 120 125
Gly Ser Ala Ala Asn Ala Lys Leu Asn Pro Thr Pro Gly Ser Asn Ala

130 135 140
Ile Ser Asp Val Pro Gly Glu Arg Ser Thr Ala Ser Thr Phe Pro Thr

145 150 155 160
Asp Pro Val Ser Pro Leu Thr Thr Thr Leu Ser Leu Ala His His Ser

165 170 175
Ser Ala Ala Leu Pro Ala Arg Thr Ser Asn Thr Thr Ile Thr Ala Asn

180 185 190
Thr Ser Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Ser Glu Thr Thr Thr Leu Ser Pro

195 200 205
Ser Gly Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro Ser

210 215 220
 Lys Pro Thr Cys Asp Glu Lys Tyr Ala Asn Ile Thr Val Asp Tyr Leu

 225 230 235 240
 Tyr Asn Lys Glu Thr Lys Leu Phe Thr Ala Lys Leu Asn Val Asn Glu

 245 250 255
 Asn Val Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His Asn

 260 265 270
 Leu Thr Glu Cys Lys Asn Ala Ser Val Ser Ile Ser His Asn Ser Cys

 275 280 285
 Thr Ala Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val Glu

 290 295 300
 Lys Phe Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr Thr
 305 310 315 320
 Ile Cys Leu Lys Trp Lys Asn Ile Glu Thr Phe Thr Cys Asp Thr Gln

 325 330 335
 Asn Ile Thr Tyr Arg Phe Gln Cys Gly Asn Met Ile Phe Asp Asn Lys

 340 345 350
 Glu Ile Lys Leu Glu Asn Leu Glu Pro Glu His Glu Tyr Lys Cys Asp

 355 360 365
 Ser Glu Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys Ile

 370 375 380
 Ile Lys Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe Cys
 385 390 395 400
 Arg Ser Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro Gln

 405 410 415
 Arg Ser Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu Lys

 420 425 430
 Asp Cys Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln Asn

 435 440 445
 Leu Lys Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile Ile

 450 455 460

Ala Lys Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr Thr
465 470 475 480
Lys Ser Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met Thr
485 490 495
Ser Asp Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg Asn
500 505 510
Gly Pro His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr Leu
515 520 525
Val Arg Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp Leu
530 535 540
Gln Tyr Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly Asp
545 550 555 560
Tyr Pro Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn Ser
565 570 575
Lys Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser Ile
580 585 590
Ala Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys Arg
595 600 605
Ser Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp Glu
610 615 620
Lys Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu Glu
625 630 635 640
Thr Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala Glu
645 650 655
Phe Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu Ala
660 665 670
Arg Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu Pro
675 680 685
Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala Gly
690 695 700
Ser Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro Arg

705 710 715 720
 Lys Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp Phe
 725 730 735
 Trp Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val Thr

 740 745 750
 Arg Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro Ser
 755 760 765
 Met Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile Asn
 770 775 780
 Gln His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile Val
 785 790 795 800
 Asn Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln Phe

 805 810 815
 Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu Leu
 820 825 830
 Lys Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly Pro
 835 840 845
 Ile Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr Ile
 850 855 860
 Gly Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val Asp

 865 870 875 880
 Val Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met Val
 885 890 895
 Gln Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu Tyr
 900 905 910
 Asn Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro Tyr
 915 920 925
 Leu His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro Leu

 930 935 940
 Glu Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr Gln
 945 950 955 960

His Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser Asn

965 970 975

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

980 985 990

Met Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp

995 1000 1005

Ser Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met

1010 1015 1020

Ser Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys

1025 1030 1035 1040

Glu Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys

1045 1050 1055

Val Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys

1060 1065 1070

Ala Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val

1075 1080 1085

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

1090 1095 1100

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

1105 1110 1115 1120

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

1125 1130 1135

Leu Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn

1140 1145 1150

Ser Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile His

1155 1160 1165

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

1170 1175 1180

Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln Val

1185 1190 1195 1200

Val Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val Ser Thr Phe Glu

1205 1210 1215
Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala Gln

1220 1225 1230
Asn Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe

1235 1240 1245
Asp Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro

1250 1255 1260
Leu Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly

1265 1270 1275 1280
Ser Glu Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly

1285 1290 1295
Pro Ala Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser

1300 1305

<210> 100

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 100

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 101

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 101

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Ser Ser

<210> 102

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 102

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr
20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile
35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 103

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 103

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Asn Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 104

<211> 1193

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> hCD45RC

<300>

<308> UniProt Accession P08575-10

<309> 2018 03 28

<400> 104

Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe

1 5 10 15

Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro

20 25 30

Thr Asp Val Pro Gly Glu Arg Ser Thr Ala Ser Thr Phe Pro Thr Asp

35 40 45

Pro Val Ser Pro Leu Thr Thr Thr Leu Ser Leu Ala His His Ser Ser

50 55 60

Ala Ala Leu Pro Ala Arg Thr Ser Asn Thr Thr Ile Thr Ala Asn Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro Ser Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His Asn Leu

145 150 155 160

Thr Glu Cys Lys Asn Ala Ser Val Ser Ile Ser His Asn Ser Cys Thr

165 170 175

Ala Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val Glu Lys

180 185 190

Phe Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr Thr Ile

195 200 205

Cys Leu Lys Trp Lys Asn Ile Glu Thr Phe Thr Cys Asp Thr Gln Asn
 210 215 220

 Ile Thr Tyr Arg Phe Gln Cys Gly Asn Met Ile Phe Asp Asn Lys Glu
 225 230 235 240
 Ile Lys Leu Glu Asn Leu Glu Pro Glu His Glu Tyr Lys Cys Asp Ser
 245 250 255
 Glu Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys Ile Ile
 260 265 270
 Lys Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe Cys Arg
 275 280 285

 Ser Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro Gln Arg
 290 295 300
 Ser Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu Lys Asp
 305 310 315 320
 Cys Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln Asn Leu
 325 330 335
 Lys Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile Ile Ala
 340 345 350

 Lys Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr Thr Lys
 355 360 365
 Ser Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met Thr Ser
 370 375 380
 Asp Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg Asn Gly
 385 390 395 400
 Pro His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr Leu Val
 405 410 415

 Arg Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp Leu Gln
 420 425 430
 Tyr Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly Asp Tyr
 435 440 445
 Pro Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn Ser Lys

450 455 460
 Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser Ile Ala
 465 470 475 480

 Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys Arg Ser
 485 490 495
 Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp Glu Lys
 500 505 510
 Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu Glu Thr
 515 520 525
 Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala Glu Phe
 530 535 540

 Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu Ala Arg
 545 550 555 560
 Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu Pro Tyr
 565 570 575
 Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala Gly Ser
 580 585 590
 Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro Arg Lys
 595 600 605

 Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp Phe Trp
 610 615 620
 Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val Thr Arg
 625 630 635 640
 Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro Ser Met
 645 650 655
 Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile Asn Gln
 660 665 670

 His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile Val Asn
 675 680 685
 Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln Phe Thr
 690 695 700

Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu Leu Lys
705 710 715 720
Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly Pro Ile
725 730 735

Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr Ile Gly
740 745 750
Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val Asp Val
755 760 765
Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met Val Gln
770 775 780
Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu Tyr Asn
785 790 795 800

Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro Tyr Leu
805 810 815
His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro Leu Glu
820 825 830
Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr Gln His
835 840 845
Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser Asn Val
850 855 860

Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu Glu Met
865 870 875 880
Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp Ser
885 890 895
Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met Ser
900 905 910
Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys Glu
915 920 925

Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys Val
930 935 940
Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala

945 950 955 960
 Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val Asp
 965 970 975
 Leu Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu
 980 985 990

 Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln
 995 1000 1005
 Tyr Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu Leu
 1010 1015 1020
 Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn Ser
 1025 1030 1035 1040
 Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile His Cys
 1045 1050 1055

 Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu Leu Asn Leu
 1060 1065 1070
 Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln Val Val
 1075 1080 1085
 Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val Ser Thr Phe Glu Gln
 1090 1095 1100
 Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala Gln Asn
 1105 1110 1115 1120

 Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp
 1125 1130 1135
 Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro Leu
 1140 1145 1150
 Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser
 1155 1160 1165
 Glu Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro
 1170 1175 1180

 Ala Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser
 1185 1190

<210> 105

<211> 66

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> A determinant of hCD45

<400> 105

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Asn Asp Phe Ser Glu Thr Thr Thr Ser Leu Ser Pro Asp Asn Thr

35 40 45

Ser Thr Gln Val Ser Pro Asp Ser Leu Asp Asn Ala Ser Ala Phe Asn

50 55 60

Thr Thr

65

<210> 106

<211> 47

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> B determinant of hCD45

<400> 106

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

1 5 10 15

Gln Thr Pro Ser Ala Gly Thr Asp Thr Gln Thr Phe Ser Gly Ser Ala

20 25 30

Ala Asn Ala Lys Leu Asn Pro Thr Pro Gly Ser Asn Ala Ile Ser

35 40 45

<210> 107

<211> 1211

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> hCD45RA

<300>

<308> UniProt Accession P08575-8

<309> 2018 03 28

<400> 107

Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe

1 5 10 15

Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro

20 25 30

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

35 40 45

Pro Leu Pro Thr His Thr Thr Ala Phe Ser Pro Ala Ser Thr Phe Glu

50 55 60

Arg Glu Asn Asp Phe Ser Glu Thr Thr Thr Ser Leu Ser Pro Asp Asn

65 70 75 80

Thr Ser Thr Gln Val Ser Pro Asp Ser Leu Asp Asn Ala Ser Ala Phe

85 90 95

Asn Thr Thr Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Ser Glu Thr Thr Thr Leu Ser

100 105 110

Pro Ser Gly Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro

115 120 125

Ser Lys Pro Thr Cys Asp Glu Lys Tyr Ala Asn Ile Thr Val Asp Tyr

130 135 140

Leu Tyr Asn Lys Glu Thr Lys Leu Phe Thr Ala Lys Leu Asn Val Asn

145 150 155 160

Glu Asn Val Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His

165 170 175

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

180 185 190

Cys Thr Ala Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val

195 200 205
Glu Lys Phe Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr

210 215 220
Thr Ile Cys Leu Lys Trp Lys Asn Ile Glu Thr Phe Thr Cys Asp Thr
225 230 235 240
Gln Asn Ile Thr Tyr Arg Phe Gln Cys Gly Asn Met Ile Phe Asp Asn
245 250 255
Lys Glu Ile Lys Leu Glu Asn Leu Glu Pro Glu His Glu Tyr Lys Cys
260 265 270
Asp Ser Glu Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys

275 280 285
Ile Ile Lys Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe
290 295 300
Cys Arg Ser Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro
305 310 315 320
Gln Arg Ser Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu
325 330 335
Lys Asp Cys Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln

340 345 350
Asn Leu Lys Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile
355 360 365
Ile Ala Lys Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr
370 375 380
Thr Lys Ser Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met
385 390 395 400
Thr Ser Asp Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg

405 410 415
Asn Gly Pro His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr
420 425 430
Leu Val Arg Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp
435 440 445

Leu Gln Tyr Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly
 450 455 460
 Asp Tyr Pro Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn

 465 470 475 480
 Ser Lys Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser
 485 490 495
 Ile Ala Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys
 500 505 510
 Arg Ser Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp
 515 520 525
 Glu Lys Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu

 530 535 540
 Glu Thr Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala
 545 550 555 560
 Glu Phe Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu
 565 570 575
 Ala Arg Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu
 580 585 590
 Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala

 595 600 605
 Gly Ser Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro
 610 615 620
 Arg Lys Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp
 625 630 635 640
 Phe Trp Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val
 645 650 655
 Thr Arg Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro

 660 665 670
 Ser Met Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile
 675 680 685
 Asn Gln His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile

690 695 700
 Val Asn Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln
 705 710 715 720
 Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu

 725 730 735
 Leu Lys Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly
 740 745 750
 Pro Ile Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr
 755 760 765
 Ile Gly Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val
 770 775 780
 Asp Val Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met

 785 790 795 800
 Val Gln Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu
 805 810 815
 Tyr Asn Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro
 820 825 830
 Tyr Leu His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro
 835 840 845
 Leu Glu Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr

 850 855 860
 Gln His Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser
 865 870 875 880
 Asn Val Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu
 885 890 895
 Glu Met Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp
 900 905 910
 Asp Ser Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile

 915 920 925
 Met Ser Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu
 930 935 940

Lys Glu Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val

945 950 955 960

Lys Val Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile

965 970 975

Cys Ala Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu

980 985 990

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

995 1000 1005

Phe Glu Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln

1010 1015 1020

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

1025 1030 1035 1040

Glu Leu Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys

1045 1050 1055

Asn Ser Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile

1060 1065 1070

His Cys Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu Leu

1075 1080 1085

Asn Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln

1090 1095 1100

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

1105 1110 1115 1120

Glu Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala

1125 1130 1135

Gln Asn Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu

1140 1145 1150

Phe Asp Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn

1155 1160 1165

Pro Leu Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu

1170 1175 1180

Gly Ser Glu Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn

1185 1190 1195 1200
 Gly Pro Ala Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser
 1205 1210
 <210> 108
 <211> 1192
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> hCD45RB
 <300>
 <308> UniProt Accession P08575-9
 <309> 2018 03 28
 <400> 108
 Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe

 1 5 10 15
 Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro
 20 25 30
 Thr Gly Val Ser Ser Val Gln Thr Pro His Leu Pro Thr His Ala Asp
 35 40 45
 Ser Gln Thr Pro Ser Ala Gly Thr Asp Thr Gln Thr Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Ala Ala Asn Ala Lys Leu Asn Pro Thr Pro Gly Ser Asn Ala Ile Ser

 65 70 75 80
 Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Ser Glu Thr Thr Thr Leu Ser Pro Ser Gly
 85 90 95
 Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro Ser Lys Pro
 100 105 110
 Thr Cys Asp Glu Lys Tyr Ala Asn Ile Thr Val Asp Tyr Leu Tyr Asn
 115 120 125
 Lys Glu Thr Lys Leu Phe Thr Ala Lys Leu Asn Val Asn Glu Asn Val

 130 135 140
 Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His Asn Leu Thr

145 150 155 160
 Glu Cys Lys Asn Ala Ser Val Ser Ile Ser His Asn Ser Cys Thr Ala
 165 170 175
 Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val Glu Lys Phe
 180 185 190
 Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr Thr Ile Cys

 195 200 205
 Leu Lys Trp Lys Asn Ile Glu Thr Phe Thr Cys Asp Thr Gln Asn Ile
 210 215 220
 Thr Tyr Arg Phe Gln Cys Gly Asn Met Ile Phe Asp Asn Lys Glu Ile
 225 230 235 240
 Lys Leu Glu Asn Leu Glu Pro Glu His Glu Tyr Lys Cys Asp Ser Glu
 245 250 255
 Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys Ile Ile Lys

 260 265 270
 Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe Cys Arg Ser
 275 280 285
 Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro Gln Arg Ser
 290 295 300
 Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu Lys Asp Cys
 305 310 315 320
 Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln Asn Leu Lys

 325 330 335
 Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile Ile Ala Lys
 340 345 350
 Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr Thr Lys Ser
 355 360 365
 Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met Thr Ser Asp
 370 375 380
 Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg Asn Gly Pro

 385 390 395 400

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

645 650 655
 Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile Asn Gln His
 660 665 670
 Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile Val Asn Lys
 675 680 685
 Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln Phe Thr Ser
 690 695 700
 Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu Leu Lys Leu

 705 710 715 720
 Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly Pro Ile Val
 725 730 735
 Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr Ile Gly Ile
 740 745 750
 Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val Asp Val Tyr
 755 760 765
 Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met Val Gln Val

 770 775 780
 Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu Tyr Asn Gln
 785 790 795 800
 Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro Tyr Leu His
 805 810 815
 Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro Leu Glu Ala
 820 825 830
 Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr Gln His Ile

 835 840 845
 Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser Asn Val Ile
 850 855 860
 Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu Glu Met Ser
 865 870 875 880
 Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp Ser Asp
 885 890 895

Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met Ser Tyr

900 905 910

Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys Glu Thr

915 920 925

Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys Val Ile

930 935 940

Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala Gln

945 950 955 960

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

965 970 975

Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu Leu

980 985 990

Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln Tyr

995 1000 1005

Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu Leu Ile

1010 1015 1020

Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn Ser Ser

1025 1030 1035 1040

Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile His Cys Arg

1045 1050 1055

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

1060 1065 1070

Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln Val Val Lys

1075 1080 1085

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

1090 1095 1100

Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala Gln Asn Gly

1105 1110 1115 1120

Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp Asn

1125 1130 1135

Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro Leu Gly

1140 1145 1150
Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser Glu

1155 1160 1165
Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro Ala

1170 1175 1180
Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser

1185 1190

<210> 109

<211> 1258

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> hCD45RAB

<300>

<308> UniProt Accession P08575-5

<309> 2018 03 28

<400> 109

Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe
1 5 10 15

Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro
20 25 30

Thr Gly Leu Thr Thr Ala Lys Met Pro Ser Val Pro Leu Ser Ser Asp
35 40 45

Pro Leu Pro Thr His Thr Thr Ala Phe Ser Pro Ala Ser Thr Phe Glu
50 55 60

Arg Glu Asn Asp Phe Ser Glu Thr Thr Thr Ser Leu Ser Pro Asp Asn
65 70 75 80

Thr Ser Thr Gln Val Ser Pro Asp Ser Leu Asp Asn Ala Ser Ala Phe
85 90 95

Asn Thr Thr Gly Val Ser Ser Val Gln Thr Pro His Leu Pro Thr His
100 105 110

Ala Asp Ser Gln Thr Pro Ser Ala Gly Thr Asp Thr Gln Thr Phe Ser

115	120	125	
Gly Ser Ala Ala Asn Ala Lys Leu Asn Pro Thr Pro Gly Ser Asn Ala			
130	135	140	
Ile Ser Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Ser Glu Thr Thr Thr Leu Ser Pro			
145	150	155	160
Ser Gly Ser Ala Val Ile Ser Thr Thr Thr Ile Ala Thr Thr Pro Ser			
165	170	175	
Lys Pro Thr Cys Asp Glu Lys Tyr Ala Asn Ile Thr Val Asp Tyr Leu			
180	185	190	
Tyr Asn Lys Glu Thr Lys Leu Phe Thr Ala Lys Leu Asn Val Asn Glu			
195	200	205	
Asn Val Glu Cys Gly Asn Asn Thr Cys Thr Asn Asn Glu Val His Asn			
210	215	220	
Leu Thr Glu Cys Lys Asn Ala Ser Val Ser Ile Ser His Asn Ser Cys			
225	230	235	240
Thr Ala Pro Asp Lys Thr Leu Ile Leu Asp Val Pro Pro Gly Val Glu			
245	250	255	
Lys Phe Gln Leu His Asp Cys Thr Gln Val Glu Lys Ala Asp Thr Thr			
260	265	270	
Ile Cys Leu Lys Trp Lys Asn Ile Glu Thr Phe Thr Cys Asp Thr Gln			
275	280	285	
Asn Ile Thr Tyr Arg Phe Gln Cys Gly Asn Met Ile Phe Asp Asn Lys			
290	295	300	
Glu Ile Lys Leu Glu Asn Leu Glu Pro Glu His Glu Tyr Lys Cys Asp			
305	310	315	320
Ser Glu Ile Leu Tyr Asn Asn His Lys Phe Thr Asn Ala Ser Lys Ile			
325	330	335	
Ile Lys Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe Cys			
340	345	350	
Arg Ser Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro Gln			
355	360	365	

Arg Ser Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu Lys
370 375 380

Asp Cys Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln Asn
385 390 395 400

Leu Lys Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile Ile
405 410 415

Ala Lys Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr Thr
420 425 430

Lys Ser Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met Thr
435 440 445

Ser Asp Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg Asn
450 455 460

Gly Pro His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr Leu
465 470 475 480

Val Arg Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp Leu
485 490 495

Gln Tyr Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly Asp
500 505 510

Tyr Pro Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn Ser
515 520 525

Lys Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser Ile
530 535 540

Ala Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys Arg
545 550 555 560

Ser Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp Glu
565 570 575

Lys Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu Glu
580 585 590

Thr Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala Glu
595 600 605

Phe Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu Ala

610	615	620	
Arg Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu Pro			
625	630	635	640
Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala Gly			
	645	650	655
Ser Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro Arg			
	660	665	670
Lys Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp Phe			
	675	680	685
Trp Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val Thr			
	690	695	700
Arg Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro Ser			
705	710	715	720
Met Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile Asn			
	725	730	735
Gln His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile Val			
	740	745	750
Asn Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln Phe			
	755	760	765
Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu Leu			
	770	775	780
Lys Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly Pro			
785	790	795	800
Ile Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr Ile			
	805	810	815
Gly Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val Asp			
	820	825	830
Val Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met Val			
	835	840	845
Gln Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu Tyr			
850	855	860	

Asn Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro Tyr
865 870 875 880
Leu His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro Leu
885 890 895
Glu Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr Gln
900 905 910

His Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser Asn
915 920 925
Val Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu Glu
930 935 940
Met Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp
945 950 955 960
Ser Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met
965 970 975

Ser Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys
980 985 990
Glu Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys
995 1000 1005
Val Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys
1010 1015 1020
Ala Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val
1025 1030 1035 1040

Asp Leu Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe
1045 1050 1055
Glu Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr
1060 1065 1070
Gln Tyr Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu
1075 1080 1085
Leu Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn
1090 1095 1100

Ser Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile His

1105 1110 1115 1120
 Cys Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu Leu Asn
 1125 1130 1135
 Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln Val
 1140 1145 1150
 Val Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val Ser Thr Phe Glu
 1155 1160 1165

 Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala Gln
 1170 1175 1180
 Asn Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe
 1185 1190 1195 1200
 Asp Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro
 1205 1210 1215
 Leu Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly
 1220 1225 1230

 Ser Glu Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly
 1235 1240 1245
 Pro Ala Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser
 1250 1255

 <210> 110
 <211> 1145
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> hCD45R0
 <300>
 <308> UniProt Accession P08575-4
 <309> 2018 03 28
 <400> 110

 Met Thr Met Tyr Leu Trp Leu Lys Leu Leu Ala Phe Gly Phe Ala Phe
 1 5 10 15
 Leu Asp Thr Glu Val Phe Val Thr Gly Gln Ser Pro Thr Pro Ser Pro

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

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

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

 210 215 220
 Lys Thr Asp Phe Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gln Ile Ile Phe Cys Arg
 225 230 235 240
 Ser Glu Ala Ala His Gln Gly Val Ile Thr Trp Asn Pro Pro Gln Arg
 245 250 255
 Ser Phe His Asn Phe Thr Leu Cys Tyr Ile Lys Glu Thr Glu Lys Asp
 260 265 270

Cys Leu Asn Leu Asp Lys Asn Leu Ile Lys Tyr Asp Leu Gln Asn Leu

275 280 285
Lys Pro Tyr Thr Lys Tyr Val Leu Ser Leu His Ala Tyr Ile Ile Ala
290 295 300
Lys Val Gln Arg Asn Gly Ser Ala Ala Met Cys His Phe Thr Thr Lys
305 310 315 320
Ser Ala Pro Pro Ser Gln Val Trp Asn Met Thr Val Ser Met Thr Ser
325 330 335
Asp Asn Ser Met His Val Lys Cys Arg Pro Pro Arg Asp Arg Asn Gly

340 345 350
Pro His Glu Arg Tyr His Leu Glu Val Glu Ala Gly Asn Thr Leu Val
355 360 365
Arg Asn Glu Ser His Lys Asn Cys Asp Phe Arg Val Lys Asp Leu Gln
370 375 380
Tyr Ser Thr Asp Tyr Thr Phe Lys Ala Tyr Phe His Asn Gly Asp Tyr
385 390 395 400
Pro Gly Glu Pro Phe Ile Leu His His Ser Thr Ser Tyr Asn Ser Lys

405 410 415
Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser Ile Ala
420 425 430
Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys Arg Ser
435 440 445
Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp Glu Lys
450 455 460
Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu Glu Thr

465 470 475 480
Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala Glu Phe
485 490 495
Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu Ala Arg
500 505 510
Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu Pro Tyr

515 520 525
Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala Gly Ser

530 535 540
Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro Arg Lys
545 550 555 560

Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp Phe Trp
565 570 575

Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val Thr Arg
580 585 590

Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro Ser Met

595 600 605
Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile Asn Gln

610 615 620
His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile Val Asn

625 630 635 640
Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln Phe Thr

645 650 655
Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu Leu Lys

660 665 670
Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly Pro Ile

675 680 685
Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr Ile Gly

690 695 700
Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val Asp Val

705 710 715 720
Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met Val Gln

725 730 735
Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu Tyr Asn

740 745 750
Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro Tyr Leu

755 760 765

His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro Leu Glu
770 775 780

Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr Gln His

785 790 795 800

Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser Asn Val
805 810 815

Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu Glu Met
820 825 830

Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp Ser
835 840 845

Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met Ser

850 855 860

Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys Glu
865 870 875 880

Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys Val
885 890 895

Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala
900 905 910

Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val Asp

915 920 925

Leu Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu
930 935 940

Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln
945 950 955 960

Tyr Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu Leu
965 970 975

Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn Ser

980 985 990

Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile His Cys
995 1000 1005

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

1010 1015 1020
 Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln Val Val
 1025 1030 1035 1040
 Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val Ser Thr Phe Glu Gln

 1045 1050 1055
 Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala Gln Asn
 1060 1065 1070
 Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp
 1075 1080 1085
 Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro Leu
 1090 1095 1100
 Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser

1105 1110 1115 1120
 Glu Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro
 1125 1130 1135
 Ala Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser
 1140 1145

<210> 111

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR2

<400> 111

Ala Thr Ser Asn Leu Pro Ser

1 5

<210> 112

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 112

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 113

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 113

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

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

35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50

55

60

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

65

70

75

80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

85

90

95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 114

<400> 114

000

<210> 115

<400> 115

000

<210> 116

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 116

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Ala Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Gln

1

5

10

15

Gly

<210> 117

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 117

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 118

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 118

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 119

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VH-CDR2

<400> 119

Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Ser Ala Glu Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 120

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> VL-CDR2

<400> 120

Asn Thr Ala Asn Leu Pro Ser

1 5

<210> 121

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 121

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Ala Asn Tyr Ala Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 122

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 122

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

100 105 110
Ser Ser

<210> 123

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 123

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

85 90 95
Val Arg Arg Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110
Ser Ser

<210> 124

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized HCVR

<400> 124

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Ser Ala Glu Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser Ser

<210> 125

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<400> 125

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Thr Gly Thr Ser Pro Arg Leu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Phe Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105

<210> 126

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<400> 126

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Thr Gly Thr Ser Pro Arg Leu Trp Ile Tyr

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

<210> 127

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa is any amino acid but Ala (A) or Asn (N)

<220>

<223> VL-CDR2

<400> 127

Xaa Thr Ser Asn Leu Pro Ser

1 5

<210> 128

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 31

<223> Xaa is selected from Asn (N), Ser (S) and Gly (G)

<220>

<221> SITE

<222> 50

<223> Xaa is any amino acid but Ala (A) or Asn (N)

<400> 128

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile

35 40 45

Tyr Xaa Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 129

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Humanized LCVR

<220>

<221> SITE

<222> 49

<223> Xaa is any amino acid but Ala (A) or Asn (N)

<400> 129

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

1 5 10 15

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

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

<210> 130

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker Gly3 Ser

<400> 130

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 131

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker (Gly3 Ser)4

<400> 131

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

1 5 10 15

<210> 132

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker Gly4 Ser

<400> 132

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 133

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker (Gly4 Ser)2

<400> 133

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 134

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker (Gly4 Ser)3

<400> 134

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

1 5 10 15

<210> 135

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> linker (Gly4 Ser)4

<400> 135

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 136

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> (G4S)3 linker

<400> 136

ggaggtggag gctctggcgg tggaggaagt ggtgggggag gctct 45

<210> 137

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> (G4S)3 linker

<400> 137

ggtggcgggtg gctcgggcgg tggtaggtcg ggtggcggcg gatct 45

<210> 138

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> scFv CD45RC-CAR

<400> 138

aaggtccagc tgcaacagtc tggcgtgag ctggttaggc ctgggacttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg ccgctggata caccttcact aactactaca taggttgggt aaagcagagg 120

cctggacatg gccttgagtg gatcggagat attttcctg gaggtgacta tgccaacagc 180

aatgagaagt tcaagggcaa agccacactg actgcagaca catcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgccatct attactgtgt gagaaggaac 300

tttgactact ggggccaaagg caccactctc acagtgtcct caggtggcgg tggctcgggc 360

ggtggtgggt cgggtggcgg cggatctcaa attgttctca ccagctctcc aacaatcatg 420

tctgcatctc caggggagaa ggtgaccata acctgcagtg ccagctcaag tgtaagttac 480

atgcactggt tccagcagaa gacaggcact tctcccagac tctggattta taacacatcc 540
aacctgcctt ctggagtccc cgctcgcttc agtggcagtg gatctgggac ctcttactct 600
ctcacaatca gccgaatgga ggctgaagat gctgccactt attactgcca gcaaaggagt 660
agttaccac tcacgttcgg tgctgggacc aagctggagc tgaaa 705

<210> 139

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hinge

<400> 139

Ala Gly Ser Ser Ser Ser Gly Gly Ser Thr Thr Gly Gly Ser Thr Thr

1 5 10 15

<210> 140

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hinge

<400> 140

Gly Thr Thr Ala Ala Ser Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Ala

1 5 10 15

<210> 141

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hinge

<400> 141

Ser Ser Ala Thr Ala Thr Ala Gly Thr Gly Ser Ser Thr Gly Ser Thr

1 5 10 15

<210> 142

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hinge

<400> 142

Thr Ser Gly Ser Thr Gly Thr Ala Ala Ser Ser Thr Ser Thr Ser Thr

1 5 10 15

<210> 143

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hinge

<400> 143

Gly Gly Thr Gly Gly Cys Gly Gly Ala Gly Gly Thr Thr Cys Thr Gly

1 5 10 15

Gly Ala Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Thr Thr Cys Cys

20 25 30

<210> 144

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hinge KIR2DS2

<400> 144

Lys Ile Arg Arg Asp Ser Ser

1 5

<210> 145

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8 hinge

<400> 145

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

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

<210> 146

<211> 135

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8 hinge

<400> 146

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagccctg 60
 tccttgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120
 gacttcgcct gtgat 135

<210> 147

<211> 230

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> IgG4 hinge

<400> 147

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

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

65 70 75 80
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 85 90 95
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 100 105 110
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 130 135 140
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 195 200 205
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys Met

225 230

<210> 148

<211> 690

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgG4 hinge

<400> 148

gagagcaagt acggccctcc ctgccccct tgcctgccc ccgagttcct gggcggaccc 60

agcgtgttcc tgttcccccc caagcccaag gacacctga tgatcagccg gacccccgag 120

gtgacctgtg tgggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180

gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc 240

acctaccggg tgggtgccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300
tacaagtgtg aggtgtccaa caagggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag 360
gccaaagggcc agcctcggga gccccaggtg tacaccctgc cccctagcca agaggagatg 420
accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggt tctaccccag cgacatcgcc 480
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540

gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag cgggtggcag 600
gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cagcaggccc tgcacaacca ctacaccag 660
aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg 690

<210> 149

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgD hinge

<400> 149

Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys

35 40 45

Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly

85 90 95

Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val

100 105 110

Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn Gly

115 120 125

Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn

130 135 140
Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro

145 150 155 160
Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys

165 170 175
Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser

180 185 190
Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu

195 200 205
Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro

210 215 220
Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser

225 230 235 240
Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr

245 250 255
Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg

260 265 270
Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His

275 280

<210> 150

<211> 847

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgD hinge

<400> 150

agggtggccc aaagtcccaa ggcccaggca tctagtgttc ctactgcaca gcccaggca	60
gaaggcagcc tagccaaagc tactactgca cctgccacta cgcgcaatac tggccgtggc	120
ggggaggaga agaaaaagga gaaagagaaa gaagaacagg aagagaggga gaccaagacc	180
cctgaatgtc catcccatc ccagccgctg ggcgtctatc tcttgactcc cgcagtacag	240
gacttggtgc ttagagataa ggccaccttt acatgtttcg tcgtgggctc tgacctgaag	300

gatgccatt tgacttggga ggttgccgga aaggtaccca cagggggggt tgaggaaggg 360

ttgctggagc gccattccaa tggctctcag agccagcact caagactcac ctttccgaga 420

tccctgtgga acgccgggac ctctgtcaca tgtactetaa atcctcctag cctgccccca 480

cagcgtctga tggcccttag agagccagcc gccaggcac cagttaagct tagcctgaat 540

ctgctcgcca gtagtgatcc cccagaggcc gccagctggc tcttatgcga agtgtccggc 600

tttagccgc ccaacatctt gctcatgtgg ctggaggacc agcgagaagt gaacaccagc 660

ggcttcgctc cagccccggc cccaccccag ccgggttcta ccacattctg ggcctggagt 720

gtcttaaggg tcccagcacc acctagcccc cagccagcca catacacctg tgttgtgtcc 780

catgaagata gcaggaccct gctaaatgct tctaggagtc tggaggtttc ctacgtgact 840

gaccatt 847

<210> 151

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 hinge

<400> 151

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

35

<210> 152

<211> 117

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 hinge

<400> 152

attgaagtta tgiatcctcc tccttacctg gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60

catgtgaaag ggaacacct ttgtccaagt ccctatttc ccggaccttc taagccc 117

<210> 153

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8 transmembrane

<400> 153

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu

1 5 10 15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

20

<210> 154

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8 transmembrane

<400> 154

atctacatct ggcgccctt ggccgggact tgtgggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60

accctttact gc 72

<210> 155

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 transmembrane

<400> 155

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20

25

<210> 156

<211> 81

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 transmembrane

<400> 156

ttttgggtgc tgggtgggtg tgggtggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60
gcctttatta ttttctgggt g 81

<210> 157

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD3 zeta

<400> 157

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

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

65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 158

<400> 158

000

<210> 159

<400> 159

000

<210> 160

<400> 160

000

<210> 161

<400> 161

000

<210> 162

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> CD3 zeta a

<400> 162

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc	60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc	120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat	180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc	240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc	300
tacgacgcc ttcacatgca ggccctgcc cctcgc	336

<210> 163

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> 4-1BB intracellular

<400> 163

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 164

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4-1BB intracellular

<400> 164

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa	60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt	120
gaactg	126

<210> 165

<400> 165

000

<210> 166

<400> 166

000

<210> 167

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 intracellular

<400> 167

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1	5	10	15
---	---	----	----

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20	25	30
----	----	----

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35	40
----	----

<210> 168

<211> 123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 intracellular

<400> 168

```
aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc cgcgcgcccc    60
gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc    120
tcc                                                                    123
```

<210> 169

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD8-CD28-CD3zeta

<400> 169

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

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

          115         120         125
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
          130         135         140
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
```

145 150 155 160
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys

 165 170 175
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg

180 185 190

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys

195 200 205

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

210 215 220

<210> 170

<211> 666

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> CD8-CD28-CD3zeta

<400> 170

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccttg 60
tccttgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120

gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg ccccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc	180
ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcagg agtaagagga gcaggctcct gcacagtac	240
tacatgaaca tgactccccg ccgccccggg cccacccgca agcattacca gccctatgcc	300
ccaccacgcg acttcgcagc ctatcgctcc agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc	360
cccgctacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag	420
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga	480
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc	540

tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 600
caggggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc 660
cctcgc 666

<210> 171

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD45RC-CD8-CD28-CD3zeta

<400> 171

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Asn Ser Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Thr Gly Thr Ser Pro Arg Leu Trp Ile

165 170 175

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

180 185 190

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala

195 200 205

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

210 215 220

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Thr Thr Thr Pro Ala
 225 230 235 240
 Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
 245 250 255
 Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
 260 265 270
 Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
 275 280 285
 Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
 290 295 300
 Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
 305 310 315 320
 Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
 325 330 335
 Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 340 345 350
 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 355 360 365
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 370 375 380
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 385 390 395 400
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 405 410 415
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 420 425 430
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 435 440 445
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 450 455
 <210> 172
 <211> 1371

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD45RC-CD8-CD28-CD3zeta

<400> 172

aaggtccagc tgcaacagtc tggcgctgag ctggttaggc ctgggacttc agtgaagatg	60
tcctgcaagg ccgctggata caccitcact aactactaca taggttgggt aaagcagagg	120
cctggacatg gccttgagtg gatcgagat attttcctg gaggtgacta tgccaacagc	180
aatgagaagt tcaagggcaa agccacactg actgcagaca catcctccag cacagcctac	240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgccatct attactgtgt gagaaggaac	300
tttgactact ggggccaaagg caccactctc acagtgtcct caggtggcgg tggctcgggc	360
ggtgggtgggt cgggtggcgg cggatctcaa attgttctca ccagttctcc aacaatcatg	420
tctgcatctc caggggagaa ggtgaccata acctgcagtg ccagctcaag tgtaagttac	480
atgcactggt tcagcagaa gacaggcact tctcccagac tctggattta taacacatcc	540
aacctgcctt ctggagtccc cgctcgcttc agtggcagtg gatctgggac ctcttactct	600
ctcacaatca gccgaatgga ggctgaagat gctgccactt attactgcca gcaaaggagt	660
agttaccac tcacgttcgg tgctgggacc aagctggagc tgaaaaccac gacgccagcg	720
ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtcgagc ccctgtccct gcgccagag	780
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgagtg cacacagggg ggctggactt cgcctgtgat	840
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttacc	900
accttttact gcaggagtaa gaggagcagg ctctgcaca gtgactacat gaacatgact	960
ccccgccgc ccgggcccac ccgcaagcat taccagccct atgccccacc acgcgacttc	1020
gcagcctatc gctccagagt gaagttcagc aggagcgagc acgccccgc gtaccagcag	1080
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg	1140
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaaagc cgagaaggaa gaacctcag	1200
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg	1260
atgaaaggcg agcgcgggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca	1320
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg c	1371

<210> 173

<211> 235

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ScFv CD45RC-CAR

<400> 173

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Phe Pro Gly Gly Asp Tyr Ala Asn Ser Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Met His Trp Phe Gln Gln Lys Thr Gly Thr Ser Pro Arg Leu Trp Ile

165 170 175

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

180 185 190

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala

195 200 205

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Leu

210

215

220

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

225

230

235