(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0054843
(43) 공개일자 2025년04월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/86 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *C07K 16/30* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/86 (2013.01)
A61K 48/005 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7006068
(22) 출원일자(국제) 2023년07월25일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년02월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2023/070964
(87) 국제공개번호 WO 2024/026319
국제공개일자 2024년02월01일
(30) 우선권주장
63/391,967 2022년07월25일 미국(US)

(71) 출원인
바이로넥시스 바이오테라퓨틱스 인코포레이티드
미국, 캘리포니아 92037, 라 호야, 아테나 서클 9310
더 리서치 인스티튜트 앳 네이션와이드 칠드런스 하스피탈
미국 43205 오하이오주 콜럼버스 칠드런스 드라이브 700 룸 더블유172
(72) 발명자
크리페, 티모시 피.
미국, 캘리포니아 92037, 라 호야, 아테나 서클 9310 사내
큘라이, 랜던
미국, 캘리포니아 92037, 라 호야, 아테나 서클 9310 사내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영철, 김민정, 김 순 영

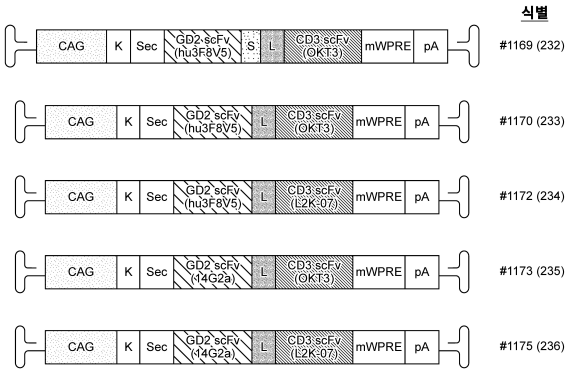
전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발명의 명칭 **아데노-관련 바이러스 벡터 및 전이 위험을 감소시키고 치료 및 예방하기 위한 이들의 사용 방법**

(57) 요 약

본 개시물은 GD2와 CD3에 결합하는 이중특이적 융합 단백질을 발현하는 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터와, 전이의 위험을 감소시키거나, 예방하거나, 또는 치료하는 데에 이를 사용하는 방법을 제공한다. 본 개시물은 또한 이중특이적 융합 단백질을 발현하는 rAAV 벡터를 제공한다.

대 표 도 - 도2a



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/2809 (2013.01)
C07K 16/3084 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C12N 2750/14132 (2013.01)
C12N 2750/14143 (2013.01)

(72) 발명자
카스파, 브라이언
미국, 캘리포니아 92037, 라 호야, 아테나 서클 9310 사내
카스파, 앨런
미국, 캘리포니아 92037, 라 호야, 아테나 서클 9310 사내
바르마, 사밋
미국, 캘리포니아 92037, 라 호야, 아테나 서클 9310 사내
가르디니에르 스콧, 야곱
미국, 캘리포니아 92037, 라 호야, 아테나 서클 9310 사내

명 세 서

청구범위

청구항 1

재조합 아데노연관바이러스(recombinant adeno-associated viral, rAAV) 벡터이고, 상기 벡터는 5'에서 3'까지,

(a) 5' AAV 역말단반복부(inverted terminal repeat, ITR);

(b) 프로모터;

(c) 하기 (i) 내지 (iii)을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 전이유전자:

(i) 항-GD2 항체의, 각각 서열번호 73, 서열번호 74, 및 서열번호 75, 또는 각각 서열번호 79, 서열번호 80, 및 서열번호 81의 상보성 결정 영역 1(CDR1), 상보성 결정 영역 2(CDR2), 및 상보성 결정 영역 3(CDR3) 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)과, 각각 서열번호 70, 서열번호 71, 및 서열번호 72, 또는 각각 서열번호 76, 서열번호 77, 및 서열번호 78의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 GD2 결합 부위,

(ii) 링커 펩타이드, 및

(iii) 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함하는 CD3 결합 부위;

(d) 변형된 RNA 안정성 조절 요소(modified RNA stability regulatory element, MRE); 및

(e) 3' AAV ITR을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 프로모터가 닭 β-액틴 프로모터, 신장인자 1α(EF1α) 프로모터, 유인원 바이러스 40(SV40) 프로모터, 또는 CAG 프로모터로 이루어지는 군에서 선택되는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 프로모터가 CAG 프로모터인, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프로모터가 서열번호 66과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GD2 항체 VL 및 VH가 각각 서열번호 2 및 서열번호 1과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 GD2 결합 부위가 단일 사슬 가변 단편(scFv)인, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 항-GD2 항체 VL이 서열번호 25를 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 사용하여 항-GD2 항체 VH에 융합되어 있는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GD2 항체 VL이 서열번호 20의 서열을 포함하는 scFv 링커

펩타이드에 의해 항-GD2 항체 VH에 융합되어 있는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 9

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GD2 항체 VL 및 VH가 각각 서열번호 4 및 서열번호 3과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 GD2 결합 부위가 단일 사슬 가변 단편(scFv)인, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 항-GD2 항체 VL이 서열번호 20을 포함하는 scFv 링커 펩타이드에 의해 항-GD2 항체 VH에 융합되어 있는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 12

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GD2 결합 부위가 서열번호 7과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD3 항체 VH가 각각 서열번호 85, 서열번호 86, 및 서열번호 87의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하고, 상기 항-CD3 항체 VL이 각각 서열번호 88, 서열번호 89, 및 서열번호 90의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 항-CD3 항체 VH 및 VL이 각각 서열번호 14 및 서열번호 15와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서, 상기 CD3 결합 부위가 단일 사슬 가변 단편(scFv)인, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 항-CD3 항체 VH가 서열번호 25와 동일한 서열을 포함하는 scFv 링커 펩타이드에 의해 항-CD3 항체 VL에 융합되어 있는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 17

제13항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 결합 부위가 서열번호 16과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 18

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-CD3 항체 VH가 각각 서열번호 91, 서열번호 92, 및 서열번호 93의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하고, 상기 항-CD3 항체 VL이 각각 서열번호 94, 서열번호 95, 및 서열번호 96의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 항-CD3 항체 VH 및 VL이 각각 서열번호 18 및 서열번호 19와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 상기 CD3 결합 부위가 단일 사슬 가변 단편(scFv)인, 재조합 아데노연관바이러스

(rAAV) 벡터.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 항-CD3 항체 VH가 서열번호 25와 동일한 서열을 포함하는 scFv 링커 펩타이드에 의해 항-CD3 항체 VL에 융합되어 있는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 22

제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD3 결합 부위가 서열번호 17과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이적 융합 단백질이 서열번호 26과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 N-말단 신호 펩타이드를 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이적 융합 단백질이 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 또는 서열번호 13과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전이유전자가 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 또는 서열번호 45와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전이유전자가 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 5' 또는 3'에 조절 요소를 더 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 조절 요소가 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 3'에 있는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 조절 요소가 우드척 간염 바이러스 전사 후 조절 요소(woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulatory element, WPRE)에서 유도되고, 서열번호 64와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 전이유전자가 Kozak 서열을 더 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 벡터는 전이유전자 서열의 3'와 3' AAV ITR의 5'에 폴리아데닐화 서열을 더 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 폴리아데닐화 서열이 서열번호 65와 적어도 95% 동일한 소 성장 호르몬(BGH) 폴리아데닐화 서열인, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' AAV ITR이 서열번호 59와 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 33

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 벡터는 항생제 내성 유전자 서열을 더 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 항생제 내성 유전자가 카나마이신 내성 유전자인, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 벡터는 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 56, 또는 서열번호 57과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는, 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 36

서열번호 11과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터.

청구항 37

환자에서 전이성 질환의 위험을 감소시키는 방법이고, 상기 방법은 환자에게 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 전이성 질환의 위험을 감소시키는 방법.

청구항 38

환자에서 전이성 질환의 발병을 지연시키는 방법이고, 상기 방법은 환자에게 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 전이성 질환의 발병을 지연시키는 방법.

청구항 39

환자에서 전이성 질환을 예방하는 방법이고, 상기 방법은 환자에게 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 전이성 질환을 예방하는 방법.

청구항 40

환자에서 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법이고, 상기 방법은 환자에게 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법.

청구항 41

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV 또는 이의 약학적 제형이 원발성 종양의 치료와 함께 투여되는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 원발성 종양의 치료가 수술적 절제, 방사선 요법, 화학요법, 또는 면역요법을 포함하는, 방법.

청구항 43

GD2+ 종양이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법이고, 상기 방법은 환자에게 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포

함하는, GD2+ 종양이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법.

청구항 44

GD2+ 암의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법이고, 상기 방법은 환자에게 제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, GD2+ 암의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법.

청구항 45

제37항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 rAAV 또는 이의 약학적 제형이 CTLA-4 저해제, PD-1 저해제, 및 PD-L1 저해제로 이루어지는 군에서 선택되는 체크포인트 저해제와 함께 투여되는, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 체크포인트 저해제가 펨브롤리주맙(pembrolizumab), 이필리무맙(ipilimumab), 니볼루맙(nivolumab), 및 아테졸리주맙(atezolizumab)으로 이루어지는 군에서 선택되는, 방법.

청구항 47

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항의 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 제형.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 교차 참조

[0002] 본 출원은 2022년 7월 25일자로 출원된 미국 임시 특허 출원 제63/391,967호의 이익 및 우선권을 주장하며, 그 전체가 본원에 원용되어 포함된다.

[0003] 본 개시내용은 일반적으로 GD2 결합 부위와 CD3 결합 부위를 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 전이유전자 서열을 전달하기 위한 아데노연관바이러스(AAV) 벡터에 관한 것이다. 본 개시내용은 나아가 순환 종양 세포를 사멸시키는 방법으로, 암 및 전이성 질환의 위험을 감소시키고, 암 및 전이성 질환의 발병을 지연시키고, 암 및 전이성 질환을 예방하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0004] 암은 여전히 전 세계적으로 중요한 건강 문제이고 미국에서 두 번째로 높은 사망 원인이다. 암에 대한 현재 치료 옵션은 모든 환자에게 효과적이지 않으며, 종종 상당히 유해한 부작용과 관련이 있을 수 있다.

[0005] 암 면역요법은 종래의 화학요법보다 더 큰 특이성을 나타내고 환자 자체의 면역계를 유도하는 방식으로 종양 세포의 파괴를 촉진시킬 수 있기 때문에 유망한 치료 방식이다. 이중특이적 T세포 인게이져 단백질은 종양 세포와 T세포 둘 모두에 결합하여 종양 세포의 파괴를 자극하는 선행 기술에 기재된 재조합 융합 단백질이다.

[0006] 아데노연관바이러스(AAV)는 암 면역요법의 장기적이고 일관된 혈류 수치를 달성하기 위해 유전자 요법 벡터로 사용되었다. 예를 들어, 이중특이적 αCD19-αCD3 단백질을 인코딩하는 AAV는 혈류에서 1년 넘게 지속되며 CD19+ 림프종 모델에서 항종양 효능을 달성하였다(Cripe *et al.*, Science Advances, 출판 대기 중).

[0007] 전이는 고형 종양의 "백혈병 구획"으로 여겨질 수 있는 순환 종양 세포에서 발생한다고 여겨지기 때문에, 암을 표적으로 하는 장기적이고 일관된 면역학적 압력이 전이의 발달을 예방하는 데 효과적으로 사용될 수 있다. 순환 종양 세포는 면역억제성 고형 종양 미세환경 외부에 존재하기 때문에, 면역요법에 더 취약할 수 있다.

[0008] 디시알로강글리오시드 GD2(disialoganglioside GD2)는 정상 조직에서는 제한적으로 발현되지만, 다양한 종양에서는 과발현되는 디시알로강글리오시드이다. GD2는 종양 유형에 따라 세포 증식, 이동성, 이동, 유착 및 침습을 증강시키는 방식으로 종양 발달과 악성 표현형에 연루되어 있다. GD2는 거의 모든 신경모세포종, 대부분의 흑색종 및 망막모세포종과, 다수의 유잉 육종(Ewing sarcoma)에서 고도로 발현된다. 더 다양하게는, GD2는 소세포폐암, 신경교종, 골육종 및 연조직 육종에서 발현된다.

발명의 내용

[0009] 본 개시내용은 암 및 전이의 위험을 감소시키고, 암 및 전이를 예방하고 치료하기 위한 이중특이적 융합 단백질을 발현하는 아데노연관바이러스 벡터를 사용하는 조성물 및 방법에 관한 것이다.

[0010] 본 개시내용은 암 및 전이의 위험을 감소시키고, 암 및 전이를 예방하고 치료하기 위한 이중특이적 융합 단백질을 발현하는 아데노연관바이러스 벡터를 사용하는 조성물 및 방법에 관한 것이다.

[0011] 일부 양태에서, 본 개시내용은 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터로서, 5'→3' 방향으로, (a) 5' AAV 역말단반복부(ITR); (b) 프로모터; (c) 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 전이유전자로서, (i) 각각 서열번호 73, 서열번호 74 및 서열번호 75, 또는 각각 서열번호 79, 서열번호 80 및 서열번호 81의 상보성 결정 영역 1(CDR1), 상보성 결정 영역 2(CDR2) 및 상보성 결정 영역 3(CDR3) 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)과, 각각 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72, 또는 각각 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 항-GD2 항체의 GD2 결합 부위; (ii) 링커 펩타이드, 및 (iii) 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 전이유전자; (d) 변형된 RNA 안정성 조절 요소(MRE); 및 (e) 3' AAV ITR을 포함하는 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터를 제공한다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 닭 β-액틴 프로모터, 신장인자 1α(EF1α) 프로모터, 유인원 바이러스 40(SV40) 프로모터, 또는 CAG 프로모터로 이루어지는 군에서 선택된다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 CAG 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 서열번호 66과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-GD2 항체 VL 및 VH는, 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시형태에서, 항-GD2 항체 VL은 서열번호 25를 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 사용하여 항-GD2 항체 VH에 융합된다. 일부 실시형태에서, 항-GD2 항체 VL은 서열번호 20의 서열을 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 통해 항-GD2 항체 VH에 융합된다. 일부 실시형태에서, 항-GD2 항체 VL 및 VH는, 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시형태에서, 항-GD2 항체 VL은 서열번호 20을 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 통해 항-GD2 항체 VH에 융합된다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 7과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD3 항체 VH는, 각각, 서열번호 85, 서열번호 86 및 서열번호 87의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하고, 항-CD3 항체 VL은, 각각, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD3 항체 VH 및 VL은, 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시형태에서, 항-CD3 항체 VH는 서열번호 25와 동일한 서열을 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 통해 항-CD3 항체 VL에 융합된다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 16과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD3 항체 VH는, 각각, 서열번호 91, 서열번호 92 및 서열번호 93의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하고, 항-CD3 항체 VL은, 각각, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CD3 항체 VH 및 VL은, 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시형태에서, 항-CD3 항체 VH는 서열번호 25와 동일한 서열을 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 통해 항-CD3 항체 VL에 융합된다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 17과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 26과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 N-말단 신호 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 또는 서열번호 13과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 또는 서열번호 45와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 5' 또는 3'에 조절 요소를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 조절 요소는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 3'에 있다. 일부 실시형태에서, 조절 요소는 우드척 간염 바이러스 전사 후 조절 요소(WPRE)에서 유도되며, 서열번호 64와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 Kozak 서열을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 전이유전자 서열의 3'와 3' AAV ITR의 5'에 폴리아데닐화 서열을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리아데닐화 서열은 서열번호 65와 적어도 95% 동일한 소 성장 호르몬(BGH) 폴리아데닐화 서열이다. 일부 실시형태에서, 3' AAV ITR은 서열번호 59와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 항생제 내성 유전자 서열을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 항생제 내성 유전자는 카나마이신 내성 유전자이다. 일부 실시형태에서, 벡터는 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 56, 또는 서열번호 57과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0012] 일부 양태에서, 본 개시내용은 서열번호 11과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터를 제공한다.

[0013] 일부 양태에서, 본 개시내용은 환자에서 전이성 질환의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 본원에 기재된 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0014] 일부 양태에서, 본 개시내용은 환자에서 전이성 질환의 발병을 지연시키는 방법으로서, 환자에게 본원에 기재된 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0015] 일부 양태에서, 본 개시내용은 환자에서 전이성 질환을 예방하는 방법으로서, 환자에게 본원에 기재된 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0016] 일부 양태에서, 본 개시내용은 환자에서 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 본원에 기재된 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, rAAV 또는 이의 약학적 제형은 원발성 종양의 치료와 동시에 투여된다. 일부 실시형태에서, 원발성 종양의 치료는 수술적 절제, 방사선 요법, 화학요법, 또는 면역요법을 포함한다.

[0017] 일부 양태에서, 본 개시내용은 GD2+ 종양이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 본원에 기재된 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0018] 일부 양태에서, 본 개시내용은 GD2+ 암의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 본원에 기재된 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, AAV 또는 이의 약학적 제형은 CTLA-4 저해제, PD-1 저해제 및 PD-L1 저해제로 이루어지는 군에서 선택되는 체크포인트 저해제와 함께 투여된다. 일부 실시형태에서, 체크포인트 저해제는 펨브롤리주맙(pembrolizumab), 이필리무맙(ipilimumab), 니볼루맙(nivolumab) 및 아테졸리주맙(atezolizumab)으로 이루어지는 군에서 선택된다.

[0019] 일부 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 제형을 제공한다.

[0020] 일부 양태에서, 본 개시내용은 환자에서 전이성 질환의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 양태에서, rAAV 벡터는, 5'→3' 방향으로, 5' AAV 역말단반복부(ITR); 프로모터; 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하는 전이유전자; 및 3' AAV ITR을 포함한다. 일부 양태에서, 이중특이적 융합 단백질은 항-GD2 항체의 경쇄 가변 영역(VL)과 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 GD2 결합 부위; 링커 펩타이드; 및 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0021] 일부 양태에서, 본 개시내용은 환자에서 전이성 질환의 발병을 지연시키는 방법으로서, 환자에게 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 양태에서, rAAV는, 5'→3' 방향으로, 5' AAV 역말단반복부(ITR); 프로모터; 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하는 전이유전자; 및 3' AAV ITR을 포함한다. 일부 양태에서, 이중특이적 융합 단백질은 항-GD2 항체의 경쇄 가변 영역(VL)과 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 GD2 결합 부위; 링커 펩타이드; 및 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0022] 일부 양태에서, 본 개시내용은 환자에서 전이성 질환을 예방하는 방법으로서, 환자에게 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 양태에서, rAAV는, 5'→3' 방향으로, 5' AAV 역말단반복부(ITR); 프로모터; 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하는 전이유전자; 및 3' AAV ITR을 포함한다. 일부 양태에서, 이중특이적 융합 단백질은 항-GD2 항체의 경쇄 가변 영역(VL)과 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 GD2 결합 부위; 링커 펩타이드; 및 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0023] 일부 양태에서, 본 개시내용은 환자에서 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제

공한다. 일부 양태에서, rAAV는, 5'→3' 방향으로, 5' AAV 역말단반복부(ITR); 프로모터; 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하는 전이유전자; 및 3' AAV ITR을 포함한다. 일부 양태에서, 이중특이적 융합 단백질은 항-GD2 항체의 경쇄 가변 영역(VL)과 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 GD2 결합 부위; 링커 펩타이드; 및 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0024] 일부 양태에서, rAAV 또는 이의 약학적 제형은 원발성 종양의 치료와 동시에 투여된다. 일부 양태에서, 원발성 종양의 치료는 수술적 절제, 방사선 요법, 화학요법, 또는 면역요법을 포함한다.

[0025] 일부 양태에서, 본 개시내용은 GD2+ 종양이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 양태에서, rAAV는, 5'→3' 방향으로, 5' AAV 역말단반복부(ITR); 프로모터; 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하는 전이유전자; 및 3' AAV ITR을 포함한다. 일부 양태에서, 이중특이적 융합 단백질은 항-GD2 항체의 경쇄 가변 영역(VL)과 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 GD2 결합 부위; 링커 펩타이드; 및 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0026] 일부 양태에서, 본 개시내용은 GD2+ 암의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일부 양태에서, rAAV는, 5'→3' 방향으로, 5' AAV 역말단반복부(ITR); 프로모터; 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하는 전이유전자; 및 3' AAV ITR을 포함한다. 일부 양태에서, 이중특이적 융합 단백질은 항-GD2 항체의 경쇄 가변 영역(VL)과 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 GD2 결합 부위; 링커 펩타이드; 및 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0027] 일부 양태에서, 본 개시내용은 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터로서, 5'→3' 방향으로, 5' AAV 역말단반복부(ITR); 프로모터; 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 또는 서열번호 13과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열을 포함하는 전이유전자; 및 3' AAV ITR을 포함하는 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터를 제공한다.

[0028] 일부 양태에서, rAAV 또는 이의 약학적 제형은 CTLA-4 저해제, PD-1 저해제 및 PD-L1 저해제를 포함하는 군에서 선택되는 체크포인트 저해제와 함께 투여된다. 일부 양태에서, 체크포인트 저해제는 펨브롤리주맙, 이필리무맙, 니볼루맙 및 아테졸리주맙을 포함하는 군에서 선택된다.

[0029] 일부 양태에서, 5' AAV ITR은 서열번호 58과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 3' AAV ITR은 서열번호 59와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0030] 일부 양태에서, 프로모터는 닭 β-액틴 프로모터, 신장인자 1α(EF1α) 프로모터, 유인원 바이러스 40(SV40) 프로모터 및 CAG 프로모터에서 선택된다. 일부 양태에서, 프로모터는 CAG 프로모터이다. 일부 양태에서, 프로모터는 서열번호 66과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0031] 일부 양태에서, GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VL은, 각각, 서열번호 73, 서열번호 74 및 서열번호 75의 상보성 결정 영역 1(CDR1), 상보성 결정 영역 2(CDR2) 및 상보성 결정 영역 3(CDR3) 서열을 갖고, GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VH는, 각각, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 갖는다. 일부 양태에서, 항-GD2 항체 VL 및 VH는, 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1과 적어도 95% 동일한 서열을 갖는다. 일부 양태에서, GD2 결합 부위는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일부 양태에서, GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VL은 서열번호 20의 서열을 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 통해 GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VH에 융합된다. 일부 양태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 5와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0032] 일부 양태에서, GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VL은, 각각, 서열번호 79, 서열번호 80 및 서열번호 81 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 갖고, GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VH는, 각각, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 갖는다. 일부 양태에서, GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VL 및 VH는, 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3과 적어도 95% 동일한 서열을 갖는다. 일부 양태에서, GD2 결합 부위는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일부 양태에서, GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VL은 서열번호 20을 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 통해 GD2 결합 부위의 항-GD2 항체 VH에 융합된다. 일부 양태에서, scFv는 서열번호 7과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0033] 일부 양태에서, 링커 펩타이드는 서열번호 25 또는 서열번호 20과 동일한 서열을 포함한다.

[0034] 일부 양태에서, CD3 결합 부위의 항-CD3 항체 VH는, 각각, 서열번호 85, 서열번호 86 및 서열번호 87의 CDR1,

CDR2 및 CDR3 서열을 갖고, 항-CD3 항체 VL은, 각각, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 갖는다.

[0035] 일부 양태에서, CD3 결합 부위의 항-CD3 항체 VH 및 VL은, 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 양태에서, CD3 결합 부위는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일부 양태에서, CD3 결합 부위의 항-CD3 항체 VL은 서열번호 25와 동일한 서열을 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 통해 CD3 결합 부위의 항-CD3 항체 VH에 융합된다. 일부 양태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 16과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0036] 일부 양태에서, CD3 결합 부위의 항-CD3 항체 VH는, 각각, 서열번호 91, 서열번호 92 및 서열번호 93의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 갖고, 항-CD3 항체 VL은, 각각, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 갖는다.

[0037] 일부 양태에서, CD3 결합 부위의 항-CD3 항체 VH 및 VL은, 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 양태에서, CD3 결합 부위는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 일부 양태에서, CD3 결합 부위의 항-CD3 항체 VL은 서열번호 25와 동일한 서열을 포함하는 scFv 링커 펩타이드를 통해 CD3 결합 부위의 항-CD3 항체 VH에 융합된다. 일부 양태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 17과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0038] 일부 양태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 또는 서열번호 13과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0039] 일부 양태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 26과 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 N-말단 신호 펩타이드를 갖는다.

[0040] 일부 양태에서, 전이유전자는 서열번호 41, 서열번호 42, 서열번호 43, 서열번호 44, 또는 서열번호 45와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0041] 일부 양태에서, 전이유전자는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 5' 또는 3'에 조절 요소를 더 갖는다. 일부 양태에서, 조절 요소는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 3'에 있다. 일부 양태에서, 조절 요소는 우드척 간염 바이러스 전사 후 조절 요소(WPRE)에서 유도되며, 서열번호 64와 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0042] 일부 양태에서, 전이유전자는 Kozak 서열을 더 갖는다.

[0043] 일부 양태에서, 벡터는 전이유전자 서열의 3'와 3' AAV ITR의 5'에 폴리아데닐화 서열을 더 갖는다. 일부 양태에서, 폴리아데닐화 서열은 서열번호 65와 적어도 95% 동일한 소 성장 호르몬(BGH) 폴리아데닐화 서열이다.

[0044] 일부 양태에서, 벡터는 항생제 내성 유전자 서열을 더 갖는다. 일부 양태에서, 항생제 내성 유전자는 카나마이신 내성 유전자이다.

[0045] 일부 양태에서, 벡터는 서열번호 53, 서열번호 54, 서열번호 55, 서열번호 56, 또는 서열번호 57과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0046] 일부 양태에서, 본 개시내용은 상기 양태 중 어느 하나에 따른 재조합 AAV 벡터를 제공한다.

[0047] 일부 양태에서, 본 개시내용은 상기 양태 중 어느 하나의 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 제형을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0048] **도 1a** 내지 **도 1e**는 GD2와 CD3에 결합하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 AAV2 플라스미드의 벡터 맵이다. **도 1a**는 hu3F8V5의 VL 및 VH와 항-CD3 항체의 VH 및 VL을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 벡터 맵이다. **도 1b**는 hu3F8V5의 VL 및 VH와 항-CD3 항체의 VH 및 VL을 포함하는 대안적인 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 벡터 맵이다. **도 1c**는 hu3F8V5의 VL 및 VH와 항-CD3 항체의 VH 및 VL을 포함하는 또 다른 대안적인 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 벡터 맵이다. **도 1d**는 항-GD2 항체(14G2a)의 VL 및 VH와 항-CD3 항체의 VH 및 VL을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 벡터 맵이다. **도 1e**는 항-GD2 항체(14G2a)의 VL 및 VH와 항-CD3 항체의 VH 및 VL을 포함하는 대안적인 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 벡터 맵이다.

도 2a 및 **도 2b**는 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 다양한 작제물의 작제물 설계를 도시

한다.

도 3은 대조군 항체 블리나투모맙(blinatumomab)의 표준 곡선(하단 패널)에 기반하여 표시된 세포주에 대한 결합(상단 패널)으로 측정된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 제조 가능성 분석 결과를 도시한다.

도 4는 표시된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질이 함유된 상청액 및 T세포와 함께 인큐베이션한 후 표시된 세포주의 생존능 그래프를 도시한다.

도 5a 및 **도 5b**는 표시된 세포주에서 표면 GD2 발현과 CD19 발현의 정량화를 도시한다. **도 5a**는 표시된 세포주에서 GD2와 CD19의 염색 히스토그램을 도시한다. **도 5b**는 유세포분석 결과에 기반하여 표시된 세포주에서 GD2 또는 CD19 표면 분자의 보간된 수를 도시한다.

도 6은 표시된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질이 함유된 상청액 및 T세포와 함께 인큐베이션한 후 표시된 세포주(모세포주 또는 CD19 발현 세포주)의 생존능 그래프를 도시한다.

도 7은 표시된 세포주에서 표면 GD2 발현의 정량화(상단 패널과 하단 좌측 패널)와 표시된 세포주에서 GD2 표면 분자의 보간된 수(하단 우측 패널)를 도시한다.

도 8은 표시된 모세포주(상단 패널) 또는 루시퍼라아제 리포터 세포주(하단 패널)에서 표면 GD2 발현의 정량화를 도시한다.

도 9는 인간 말초혈액 단핵세포(huPBMC) 및 표시된 농도의 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질과 함께 인큐베이션한 후 표시된 세포주의 생존능 그래프(상단 패널)와, 검정된 세포주에서의 GD2 발현(하단 패널)을 도시한다.

도 10a 및 **도 10b**는 유세포분석으로 측정되고(**도 10a**) 동등한 가용성 형광색소 분자로 정량화된(**도 10b**) 표시된 세포주에서의 표면 GD2 발현의 정량화를 도시한다. **도 10c**는 huPBMC 및 표시된 농도의 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질과 함께 인큐베이션한 후 표시된 세포주의 생존능 그래프를 도시한다.

도 11은 huPBMC 및 표시된 농도의 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질과 함께 인큐베이션한 후 표시된 세포주의 생존능 그래프를 도시한다.

도 12는 huPBMC 및 표시된 농도의 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질과 함께 인큐베이션한 후 표시된 세포주의 생존능 그래프를 도시한다.

도 13a 내지 **도 13f**는 종양용해성 바이러스 탈리모겐 라허파렙벡(TVEC: talimogene laherparepvec) 공동처리 유무 하에서 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 항종양 효과에 대한 쥣과 모델의 결과를 도시한다. **도 13a**는 실험 개요를 도시한다. **도 13b**는 이식하고자 하는 종양 세포에서 GD2 표면 염색의 그래프를 도시한다. **도 13c**는 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 13d**는 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 13e**는 각 군에 대한 생존율을 측정한 그래프를 도시한다. **도 13f**는 전반적인 마우스 체중을 도시한 그래프를 도시한다.

도 14a 내지 **도 14p**는 두 가지 신경모세포종 이종이식 모델에서 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 항종양 효과에 대한 쥣과 모델의 결과를 도시한다. **도 14a**는 실험 개요를 도시한다. **도 14b**는 이식하고자 하는 종양 세포에서 GD2 표면 염색의 그래프를 도시한다. **도 14c**는 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 14d**는 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 14e**는 종양 부피로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 14f**는 각 군에 대한 생존율을 측정한 그래프를 도시한다. **도 14g**는 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치를 보여주는 그래프를 도시한다. **도 14h**는 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도의 표준 곡선을 도시한다. **도 14i**는 전반적인 마우스 체중을 도시한 그래프이다. **도 14j**는 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 14k**는 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 14l**은 종양 부피로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 14m**은 각 군에 대한 생존율을 측정한 그래프를 도시한다. **도 14n**은 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치를 보여주는 그래프를 도시한다. **도 14o**는 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도의 표준 곡선을 도시한다. **도 14p**는 전반적인 마우스 체중을 도시한 그래프이다.

도 15a 내지 **도 15o**는 항-PDL1 또는 종양용해성 헤르페스 바이러스(HSV1716)와 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 항종양 효과에 대한 쥣과 모델의 결과를 도시한다. **도 15a**는 실험 개요를 도시한다. **도 15b**는 대조군 또는 항-PDL1과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 표시된 일자의

마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 15c**는 대조군 또는 항-PDL1과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 15d**는 대조군 또는 항-PDL1과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 종양 부피로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 15e**는 대조군 또는 항-PDL1과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스의 각 군에 대한 생존율을 측정한 그래프를 도시한다. **도 15f**는 대조군 또는 항-PDL1과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치를 보여주는 그래프를 도시한다. **도 15g**는 대조군 또는 항-PDL1과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도의 표준 곡선을 도시한다. **도 15h**는 대조군 또는 항-PDL1과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스의 전반적인 체중 변화를 도시한 그래프이다. **도 15i**는 대조군 또는 HSV1716과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 15j**는 대조군 또는 HSV1716과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 15k**는 대조군 또는 HSV1716과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 종양 부피로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 15l**은 대조군 또는 HSV1716과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스의 각 군에 대한 생존율을 측정한 그래프를 도시한다. **도 15m**은 대조군 또는 HSV1716과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치를 보여주는 그래프를 도시한다. **도 15n**은 대조군 또는 HSV1716과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스에서 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도의 표준 곡선을 도시한다. **도 15o**는 대조군 또는 HSV1716과 조합된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 마우스의 전반적인 체중 변화를 도시한 그래프이다.

도 16a 및 **도 16b**는 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 약동학 분석 결과를 도시한다. **도 16a**는 직접 주사 후 표시된 시간에서의 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도를 도시한다. **도 16b**는 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 AAV 작제물의 투여 후 표시된 시간에서의 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도를 도시한다.

도 17은 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 AAV 작제물의 투여 후 표시된 시간에서의 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도를 도시한다.

도 18a 내지 **도 18j**는 파종성 질환에 대한 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법의 예비 시험을 위한 쥣과 전이성 신경모세포종 모델의 결과를 도시한다. **도 18a**는 실험 개요를 도시한다. **도 18b**는 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 18c**는 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 18d**는 전반적인 마우스 체중 변화를 도시한 그래프를 도시한다. **도 18e**는 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치를 보여주는 그래프를 도시한다. **도 18f**는 부검 후 마우스 기관의 이미지를 도시한다. **도 18g**는 부검 후 마우스 뇌 샘플의 형광 이미지를 도시한다. **도 18h**는 부검 후 마우스 간 샘플의 형광 이미지를 도시한다. **도 18i**는 부검 후 마우스 뇌(상단 패널), 간(중간 패널) 및 폐(하단 패널) 샘플의 형광 이미지를 도시한다. **도 18j**는 표시된 순환 면역 세포의 비율 측정을 도시한다.

도 19a 내지 **도 19g**는 쥣과 CHLA255-luc 전이성 신경모세포종 모델에서 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 항종양 효과에 대한 쥣과 모델의 결과를 도시한다. **도 19a**는 실험 개요를 도시한다. **도 19b**는 5×10^5개의 종양 세포를 주사한 마우스에서 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 19c**는 5×10^5개의 종양 세포를 주사한 마우스의 각 군에 대한 전체 생존율을 도시한 그래프를 도시한다. **도 19d**는 5×10^5개의 종양 세포를 주사한 마우스의 전반적인 체중 변화를 도시한 그래프를 도시한다. **도 19e**는 1×10^5개의 종양 세포를 주사한 마우스에서 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 19f**는 1×10^5개의 종양 세포를 주사한 마우스의 각 군에 대한 전체 생존율을 도시한 그래프를 도시한다. **도 19g**는 1×10^5개의 종양 세포를 주사한 마우스의 전반적인 체중 변화를 도시한 그래프를 도시한다.

도 20a 내지 **도 20f**는 확립된 전이성 신경모세포종 모델에서 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 항종양 효과에 대한 쥣과 모델의 결과를 도시한다. **도 20a**는 실험 개요를 도시한다. **도 20b**는 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 20c**는 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 20d**는 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치를 보여주는 그래프를 도시한다. **도 20e**는 각 군에 대한 생존율을 측정한 그

래프를 도시한다. **도 20f**는 마우스의 전반적인 체중 변화를 도시한 그래프이다.

도 21a 내지 **도 21f**는 종양 씨딩 직후 CHLA255-luc 전이성 결절의 성장을 예방하는 데 있어 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법에 대한 쥣과 모델의 결과를 도시한다. **도 21a**는 실험 개요를 도시한다. **도 21b**는 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 21c**는 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 21d**는 각 군에 대한 생존율을 측정한 그래프를 도시한다. **도 21e**는 마우스의 전반적인 체중 변화를 도시한 그래프이다. **도 21f**는 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치를 보여주는 그래프를 도시한다.

도 22a 내지 **도 22f**는 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법의 효능에 대한 GD2 발현 폐 암종 모델의 결과를 도시한다. **도 22a**는 실험 개요를 도시한다. **도 22b**는 표시된 일자의 마우스 종양 이미지를 도시한다. **도 22c**는 발광으로 측정된 종양 크기를 도시한다. **도 22d**는 각 군에 대한 생존율을 측정한 그래프를 도시한다. **도 22e**는 마우스의 전반적인 체중 변화를 도시한 그래프이다. **도 22f**는 마우스 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치를 보여주는 그래프를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049] 본 개시내용은 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터로서, 항-GD2 항체의 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)과 항-CD3 항체의 VH 및 VL을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함하는 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터를 제공한다.

[0050] 본 개시내용은 또한 환자에서 전이의 위험을 감소시키거나, 전이를 예방하거나 치료하는 데 본원에 기재된 rAAV를 사용하는 방법을 제공한다.

[0051] 본 개시내용의 이해를 용이하게 하기 위해, 하기에 다수의 용어 및 구절이 정의된다.

[0052] 본원에 사용된 단수 형태의 용어는 "하나 이상"을 의미하며, 문맥상 부적절하지 않는 한, 복수의 언급대상을 포함한다.

[0053] "핵산", "뉴클레오타이드", 또는 "올리고뉴클레오타이드"라는 용어는, 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA)과, 단일 또는 이중 가닥 형태로의 이의 중합체를 나타낸다. 구체적으로 제한되지 않는 한, 용어는 참조 핵산과 유사한 결합 특성을 갖고 자연 발생 뉴클레오타이드와 유사한 방식으로 대사되는 천연 뉴클레오타이드의 알려진 유사체를 함유하는 핵산을 포함한다. 달리 지시되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 이의 보존적으로 변형된 변이체(예컨대, 퇴화 코돈 치환), 대립유전자, 동원체(ortholog), SNP 및 상보적 서열뿐 아니라, 명백하게 제시된 서열을 암시적으로 포함한다. 구체적으로, 퇴화 코돈 치환은 하나 이상의 선택된 (또는 모든) 코돈의 세 번째 위치가 혼합 염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성하는 방식으로 달성될 수 있다(Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka *et al.*, J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); 및 Rossolini *et al.*, Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)).

[0054] "유전자"라는 용어는, 폴리펩타이드 사슬을 생성하거나 인코딩하는 것에 관여하는 DNA의 분절을 나타낼 수 있다. 이는 코딩 영역의 앞과 뒤에 있는 영역(리더(leader)와 트레일러(trailer))뿐 아니라, 개별 코딩 분절(엑손) 사이에 있는 개입 서열(인트론)을 포함할 수 있다.

[0055] "프로모터"는 핵산의 전사를 지시하는 하나 이상의 핵산 제어 서열(들)로 정의된다. 본원에 사용된 프로모터는 전사 시작 부위 근처에 있는 핵산 서열을 포함한다. 프로모터는 또한, 선택적으로 전사 시작 부위에서 수천 개의 염기쌍 만큼 떨어져 위치할 수 있는 원위 인핸서 또는 억제인자 요소를 포함한다.

[0056] 본원에 사용된 "조절 요소"는, 유전자(예컨대, 전이유전자)의 전사를 조절하고/하거나, 전사된 mRNA 산물의 안정성 또는 번역을 조절할 수 있는 핵산 서열을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 조절 요소는 유전자의 조직 특이적 전사를 조절할 수 있다. 조절 요소는 적어도 하나의 전사인자 결합 부위, 예를 들어 근육 특이적 전사인자에 대한 전사인자 결합 부위를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 조절 요소는, 조절 요소의 부재 하에서 프로모터 단독으로부터의 유전자의 전사와 비교할 때, 프로모터에 의한 유전자 발현을 증가시키거나 증강시킨다. 본원에 사용된 조절 요소는 이들이 조절하는 전이유전자와 임의의 거리(즉, 근위 또는 원위)에 존재할 수 있다. 본원에 사용된 조절 요소는 전사 제어에 관여하는 더 큰 서열의 일부, 예컨대 프로모터 서열의 일부를 포함할 수 있다. 하지만, 조절 요소 단독으로는 전형적으로 그 자체로 전사를 개시하는 데 충분하지 않으며, 프로모터의 존재가 필요하다.

[0057] 핵산은 다른 핵산 서열과 기능적인 관계에 놓여 있을 때 "작동 가능하게 연결되어 있는" 상태이다. 예를 들어,

프로모터 또는 인핸서는 서열의 전사에 영향을 미치는 경우 코딩 서열에 작동 가능하게 연결되어 있거나; 리보솜 결합 부위는 번역을 용이하게 하도록 배치되어 있는 경우에 코딩 서열에 작동 가능하게 연결되어 있다.

[0058] 본원에 사용된 "동등한 코딩 잠재력이 있는 서열"이라는 용어는, 다른 참조 핵산과 동등한 기능을 갖는 핵산 서열을 나타낸다. 동등한 코딩 잠재력이 있는 서열은 동일한 1차 뉴클레오타이드 서열을 가질 수도 갖지 않을 수도 있다. 예를 들어, 발현된 폴리펩타이드를 코딩하는 참조 핵산의 경우, 동등한 코딩 잠재력이 있는 서열은 동일한 발현된 폴리펩타이드를 기능적으로 코딩할 수 있으며, 참조 핵산과 동일한 1차 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나, 참조 핵산과 비교하여 하나 이상의 대체 코돈(들)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드를 인코딩하는 내인성 핵산 서열은 코돈 최적화를 통해 변경되어 동일한 폴리펩타이드를 코딩하는 서열을 생성할 수 있다. 코돈 최적화된 서열은 폴리뉴클레오타이드의 활성, 발현 및/또는 안정성을 변형시키기 위해 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드의 코돈이 치환된 서열일 수 있다. 예를 들어, 코돈 최적화는 내인성 유전자의 단백질 산물을 인코딩하는 잠재적을 보존하면서, 내인성 유전자 서열과 비교하여 동등한 코딩 잠재력이 있는 서열의 서열 유사성 정도를 변화시키는 데 사용될 수 있다.

[0059] "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 아미노산 잔기의 중합체를 나타낸다. 본원에 사용된 것처럼, 아미노산 잔기가 공유결합형 펩타이드 결합을 통해 연결되어 있는 임의의 길이의 아미노산 사슬(전장 단백질 포함)과, 이의 기능성 단편을 포함한다.

[0060] "가변 도메인"(예컨대, VH 도메인 또는 VL 도메인)과 "가변 영역"이라는 용어는 상호교환적으로 사용되며, 특정 항체의 특이성과 결합 친화도를 결정하는 데 관여하며 서열의 가변성을 나타내는 항체 또는 면역글로불린 도메인의 부분을 나타낸다. 가변성은 항체의 가변 도메인 전체에 고르게 분포되어 있지 않으며; 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역 각각의 하위 도메인에 집중되어 있다. 이러한 하위 도메인은 "초가변 영역" 또는 "상보성 결정 영역"(CDR)이라고 불린다. 가변 도메인의 더 보존된(즉, 초가변이 아닌) 부분은 "프레임워크" 영역(FRM 또는 FR)으로 불리며, 3차원 공간에서 6개의 CDR이 항원 결합 표면을 형성하는 스캐폴드를 제공한다.

[0061] 본원에 사용된 "상보적" 또는 "상보성"이라는 용어는, 뉴클레오타이드 또는 핵산 간의 특정 염기쌍 형성을 나타낸다. 상보적 뉴클레오타이드는, 일반적으로, A와 T(또는 A와 U), 및 G와 C이다.

[0062] 본원에 사용된 "전이유전자"라는 용어는, 세포의 게놈에 인공적으로 도입된 외인성 유전자, 또는 세포의 게놈 내 비천연 위치에 인공적으로 도입된 내인성 유전자를 나타낸다. 전이유전자는 폴리펩타이드 사슬을 생성하거나 인코딩하는 것에 관여하는 DNA의 분절을 나타낼 수 있다. 전이유전자는 코딩 영역의 앞과 뒤에 있는 영역(리더와 트레일러)뿐 아니라, 개별 코딩 분절(엑손) 사이에 있는 개입 서열(인트론)을 포함할 수 있다.

[0063] 핵산, 예를 들어 AAV 벡터의 맥락에서 본원에 사용된 "도입" 또는 "전달"이라는 용어는, 세포 외부에서 세포, 예를 들어 근육 세포 내부로의 핵산의 전좌를 나타낸다. 일부 경우에, 도입은 세포 외부에서 세포의 핵 내부로의 핵산의 전좌를 나타낸다. 비제한적으로, 전기천공, 나노와이어 또는 나노튜브와의 접촉, 수용체 매개 내재화, 세포 침투 펩타이드를 통한 전좌, 리포좀 매개 전좌 등을 포함하는, 이러한 전좌의 다양한 방법이 고려된다.

[0064] 본원에 사용된 "패키징" 또는 "캡시드화"라는 용어는, AAV 입자를 형성하기 위해 바이러스 캡시드에 AAV 벡터를 포함시키는 것을 나타낸다.

[0065] 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열의 맥락에서 사용된 "실질적 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"이라는 용어는, 참조 서열과 적어도 60% 서열 동일성을 갖는 서열을 나타낸다. 대안적으로, 동일성%는 60% 내지 100%의 임의의 정수일 수 있다. 예시적인 실시형태는, 본원에 기재된 프로그램, 바람직하게는 하기 기재된 바와 같은 표준 매개변수를 사용한 BLAST를 사용하여 참조 서열과 비교 시, 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%를 포함한다. 당업자는, 이러한 값이 코돈 축퇴, 아미노산 유사성, 리딩 프레임 위치 지정 등을 고려하여 2개의 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되는 단백질의 상응하는 동일성을 결정하기 위해 적절하게 조정될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0066] 서열 비교의 경우, 전형적으로 하나의 서열은 시험 서열과 비교되는 참조 서열의 역할을 한다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우, 시험 서열과 참조 서열을 컴퓨터에 입력하고, 필요한 경우, 하위서열 좌표를 지정하고, 서열 알고리즘 프로그램 매개변수를 지정한다. 디폴트 프로그램 매개변수를 사용할 수 있거나, 대체 매개변수를 지정할 수 있다. 이어서, 서열 비교 알고리즘은 프로그램 매개변수에 기반하여 참조 서열을 기준으로 시험 서열의 서열 동일성%를 계산한다.

[0067] 서열 동일성%와 서열 유사성%를 결정하는 데 적합한 알고리즘은 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘으로, 이는, 각각,

Altschul *et al*. (1990) *J. Mol. Biol*. 215: 403-410, 및 Altschul *et al*. (1977) *Nucleic Acids Res*. 25: 3389-3402에 기재되어 있다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국립생물정보센터(NCBI: National Center for Biotechnology Information) 웹사이트를 통해 공개적으로 이용 가능하다. 이러한 알고리즘은, 데이터베이스 서열에서 동일한 길이의 단어와 정렬될 때 일부 양수 값의 임계값 점수 T와 매칭되거나 이를 충족시키는 쿼리 서열 내 짧은 단어 길이 W를 식별하는 방식으로 높은 점수의 서열 쌍(HSP)을 먼저 식별하는 것을 포함한다. T는 이웃 단어 점수 임계값을 나타낸다(Altschul *et al, supra*). 이러한 초기 이웃 단어 히트는 이를 함유하는 더 긴 HSP를 찾기 위한 검색을 시작하는 씨드의 역할을 한다. 이어서, 누적 정렬 점수가 증가할 수 있는 정도까지, 단어 히트가 각각의 서열을 따라 양쪽 방향으로 연장된다. 뉴클레오타이드 서열에 대한 누적 점수는 매개변수 M(매칭되는 잔기 쌍에 대한 보상 점수; 항상 >0) 및 N(미스매칭되는 잔기에 대한 페널티 점수; 항상 <0)을 사용하여 계산한다. 아미노산 서열의 경우, 채점 매트릭스를 사용하여 누적 점수를 계산한다. 각 방향에서 단어 히트의 확장은 다음과 같은 경우에 중단된다: 누적 정렬 점수가 최대 달성 값으로부터 수량 X만큼 감소하는 경우; 누적 점수가 1회 이상의 음수 득점 잔기 정렬의 누적으로 인해 0 이하가 되는 경우; 또는 서열의 말단에 도달하는 경우. BLAST 알고리즘 매개변수 W, T 및 X는 정렬의 감도와 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램(뉴클레오타이드 서열의 경우)은 단어 크기(W) 28, 기대값(E) 10, M=1, N=-2, 및 양쪽 가닥의 비교를 디폴트로 사용한다. 아미노산 서열의 경우, BLASTP 프로그램은 단어 크기(W) 3, 기대값(E) 10, 및 BLOSUM62 채점 매트릭스를 디폴트로 사용한다(Henikoff& Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915 (1989) 참조).

[0068] BLAST 알고리즘은 또한 2개의 서열 간의 유사성에 대한 통계 분석을 수행한다(예컨대, Karlin& Altschul, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 90:5873-5787 (1993) 참조). BLAST 알고리즘에 의해 제공되는 유사성의 한 척도는 최소 합 확률(P(N))로, 이는 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 간의 매칭이 우연히 발생할 수 있는 확률의 표시를 제공한다. 예를 들어, 시험 핵산과 참조 핵산의 비교에서 최소 합 확률이 약 0.01 미만, 더욱 바람직하게는 약 10^{-5} 미만, 및 가장 바람직하게는 약 10^{-20} 미만인 경우, 핵산은 참조 서열과 유사한 것으로 간주된다.

[0069] "수용체", "개체", "대상", "숙주" 및 "환자"라는 용어는 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 일부 실시형태에서, 진단, 치료, 또는 요법이 필요한 임의의 포유류 대상, 특히 인간을 나타낸다. 치료의 목적에서 "포유류"는, 인간, 가축 및 농장 동물, 및 실험실, 동물원, 스포츠, 또는 애완 동물, 예컨대 개, 말, 고양이, 소, 양, 염소, 돼지, 마우스, 래트, 토끼, 기니피그, 원숭이 등을 포함하는 포유류로 분류된 임의의 동물을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 포유류는 인간이다. 이러한 용어 중 어느 것도 의료진의 감독 및/또는 암 진단 또는 현재 암 치료를 필요로 하지 않는다.

[0070] 본원에 사용된 "효율적인 전달" 또는 "효율적으로 전달하는"이라는 용어는, 전이유전자를 인코딩하는 재조합 아데노연관바이러스 벡터를 투여하여 목적하는 세포 또는 조직에서 전이유전자를 발현시키는 것을 나타낸다.

[0071] 본원에 사용된 "유효량"이라는 용어는, 유익하거나 목적하는 결과(예컨대, 단백질의 발현, 또는 목적하는 예방 또는 치료 효과)를 얻기에 충분한 물질(예컨대, 본 개시내용의 재조합 아데노연관바이러스)의 양을 나타낸다. 유효량은 1회 이상의 투여(들), 적용(들) 또는 투여량(들)으로 투여될 수 있고, 특정 제형 또는 투여 경로에 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 본원에 사용된 "치료"라는 용어는, 병태, 질환, 장애 등의 개선을 가져오는 병태, 질환, 장애 등의 약화, 감소, 조절, 개선 또는 제거, 또는 이의 증상 개선과 같은 임의의 효과를 포함한다.

[0072] 상세한 설명 전반에 걸쳐, 조성물이 특정 구성요소를 갖거나 포함하는 것으로 기재된 경우, 또는 공정 및 방법이 특정 단계를 갖거나 포함하는 것으로 기재된 경우, 추가로, 인용된 구성요소로 이루어져 있거나 본질적으로 이로 이루어져 있는 본 개시내용의 조성물이 있고, 인용된 공정 단계로 이루어져 있거나 본질적으로 이로 이루어져 있는 본 개시내용에 따른 공정 및 방법이 있다는 것이 고려된다.

[0073] ## 1. 재조합 아데노연관바이러스(AAV) 벡터

[0074] 본원에 사용된 "재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터"는, 프로모터와, AAV 역말단반복부(ITR) 서열이 플랭킹된 하나 이상의 전이유전자 또는 관심 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터(예컨대, 핵산 벡터)를 나타낸다. 본원에 기재된 rAAV 벡터는 복제될 수 있고, *rep* 유전자 산물과 *cap* 유전자 산물을 인코딩하는 하나 이상의 벡터를 포함하는 숙주세포에 도입될 때 바이러스 입자로 패키징될 수 있다.

[0075] ### *역말단반복부*

[0076] 역말단반복부(ITR)는 전이유전자를 플랭킹하는 회문구조(palindromic)의 145개 뉴클레오타이드 서열이다. 재조합 아데노연관바이러스(rAAV) 벡터의 5' ITR과 3' ITR은 전이유전자를 숙주세포 게놈(예컨대, 인간의 염색체

19)에 통합하고 AAV 입자로 캡시드화하는 데 필요하다.

[0077] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 AAV 혈청형 중 어느 하나, 예를 들어 AAVrh.74, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, 또는 AAV13의 ITR 서열을 포함한다. 바람직한 실시형태에서, 본원에 기재된 재조합 AAV 벡터는 5' ITR 서열과 3' ITR 서열에 AAV2를 포함한다. 일부 실시형태에서, AAV 혈청형은 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAV-rh8, AAV-rh10, AAV-rh20, AAV-rh39, AAV-rh74, AAV-rhM4-1, AAV-hu37, AAV-Anc80, AAV-Anc80L65, AAV-7m8, AAV-PHP-B, AAV-PHP-EB, AAV-2.5, AAV-2tYF, AAV-3B, AAV-LK03, AAV-HSC1, AAV-HSC2, AAV-HSC3, AAV-HSC4, AAV-HSC5, AAV-HSC6, AAV-HSC7, AAV-HSC8, AAV-HSC9, AAV-HSC10, AAV-HSC11, AAV-HSC12, AAV-HSC13, AAV-HSC14, AAV-HSC15, AAV-TT, AAV-DJ/8, AAV-Myo, AAV-NP40, AAV-NP59, AAV-NP22, AAV-NP66, 또는 AAV-HSC16, 또는 이의 유도체로 이루어지는 군에서 선택된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 재조합 AAV 벡터는 5' ITR 서열과 3' ITR 서열에 AAV2를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 재조합 AAV 벡터는 5' ITR 서열과 3' ITR 서열에 AAV8을 포함한다.

[0078] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 재조합 AAV 벡터는 서열번호 58과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 5' AAV2 ITR을 포함한다(**표 1A** 참조). 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 적어도 약 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' AAV2 ITR은 서열번호 58로 이루어진다.

[0079] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 재조합 AAV 벡터는 서열번호 59와 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 3' AAV2 ITR을 포함한다(**표 1A** 참조). 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 적어도 약 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59와 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59를 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' AAV2 ITR은 서열번호 59로 이루어진다.

표 1A - AAV ITR 서열

요소	뉴클레오타이드 서열
AAV2 ITR (서열번호 58)	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGG CAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGA GCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACTAGG GGTTCCT
AAV2 ITR (서열번호 59)	AGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTC GCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGG GCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCC TGCAGG

[0080]

[0081] ***프로모터***

[0082] 프로모터는 AAV 벡터 전이유전자의 발현을 유도하며, 전형적으로 발현을 조절하는 전이유전자의 업스트림(또는 5')에 위치한다.

[0083] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 포유류 프로모터, 예를 들어 인간, 비인간 영장류(예컨대, 시노몰구스 마카크), 마우스, 말, 소, 돼지, 고양이 및 개 프로모터를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 재조합 AAV 벡터는 전이유전자의 고수준 발현을 유도하기 위해 강력하고 구성적으로 활성인 프로모터를 포함한다. 예를 들어, 프로모터는 CAG 프로모터(닭 β-액틴 프로모터와 융합된 거대세포바이러스 초기 인핸서), 거대세포바이러스(CMV) 프로모터/인핸서, 신장인자 1α(EF1α) 프로모터, 유인원 바이러스 40(SV40) 프로모터, 또는 닭 β-액틴 프로모터이다.

[0084] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 프로모터는 서열번호 66과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CAG 프로모터를 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 적어도 약 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAG 프로모터는 서열번호 66과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0085] **CAG 프로모터 서열:**

CTCGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGG
GTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTT
ACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCAT
TGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGAC
TTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCAC
TTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTG
ACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACAT
GACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCA
TCGCTATTACCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTC
CCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTT
TAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGCGC
GCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAG
GCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAA
GTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAG
CGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGCGCTGCCTTCGCCCC
GTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGAC
TGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCC
TCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAATGACGGCTTGTTTCTTTTC
TGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTG
CGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGG
GAGCGCCGCGTGCGGCTCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGC
GGGCGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCAGTGTGCGCGAGGGG
AGCGCGGCCGGGGGCGGTGCCCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAG
GGGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCA
GGGGGTGTGGGCGCGTCGGTCGGGCTGCAACCCCCCCTGCACCCCC
CTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCG
TACGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCG
GCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCGCCTCGGGCCGGGGA
GGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTG
TCGAGGCGCGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGC
GAGAGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGA
AATCTGGGAGGCGCCGCCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGA
AGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTC
GTGCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGG
CTGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGC
GGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCT
AACCATGTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAACGT
GCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTG

[0086]

[0087] (서열번호 66)

[0088] ***SV40 인트론***

[0089] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 SV40 인트론을 포함한다. SV40 인트론은 통상적으로 유전자 요법 벡터에서 조절 요소로 사용되고, 발현된 RNA 전사물의 번역과 안정성을 증강시킨다.

[0090] 특정 실시형태에서, SV40 인트론은 프로모터의 다운스트림(즉, 3')과 전이유전자의 업스트림(즉, 5')에 있다. 다른 실시형태에서, SV40 인트론은 전이유전자의 다운스트림(즉, 3')에 있을 수 있다.

[0091] 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67로 이루어진다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 약 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 인트론은 서열번호 67과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0092] **SV40 인트론 서열:**

[0093] GTAAGTTTAGTCTTTTTTGTCTTTTATTTCAGGTCCCGGATCCGGTG
GTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGTCGATGTTGCCTTTACT
TCTAG

[0094] (서열번호 67)

[0095] ***폴리아데닐화 서열***

[0096] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 소 성장 호르몬(BGH) 폴리아데닐화 서열(서열번호 65) 또는 SV40 폴리아데닐화 서열(서열번호 68)과 같은 폴리아데닐화 서열을 인코딩하는 서열을 포함한다. 폴리아데닐화 서열은 핵으로부터 RNA 이출, RNA의 번역 및 RNA 안정성에 도움이 되는 유전자 요법 벡터에 통상적으로 사용되는 핵산 요소이다.

[0097] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 서열번호 65와 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 BGH poly(A) 테일을 인코딩하는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 적어도 약 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65와 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65에 따른 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, BGH poly(A) 테일은 서열번호 65에 따른 서열로 이루어진다.

[0098] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 서열번호 68과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 SV40 poly(A) 테일을 인코딩하는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68과 적어도 약 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40

poly(A) 테일은 서열번호 68과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68에 따른 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SV40 poly(A) 테일은 서열번호 68에 따른 서열로 이루어진다.

[0099] **BGH poly(A) 테일 서열:**

[0100] CTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCG
TGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCT
AATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCAT
TCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGG
ATTGGGAAGAGAATAGCAGGCATGCTGGGGA

[0101] (서열번호 65).

[0102] **SV40 poly(A) 테일 서열:**

[0103] AACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAG
CATCACAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGC

[0104] (서열번호 68)

[0105] ***인핸서***

[0106] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 하나 이상의 인핸서 서열(들)을 포함한다. 인핸서 서열은, 예를 들어 DNA 루핑과 전사 기구의 프로모터로의 동원을 지원하는 전사인자와 공동조절인자에 대한 결합 부위 역할을 하는 방식으로 전이유전자의 전사 수준을 증가시킬 수 있다.

[0107] 일부 실시형태에서, 인핸서는 5' ITR의 다운스트림(즉, 3')과 프로모터의 업스트림(즉, 5')에 있다. 일부 실시형태에서, 인핸서는 프로모터의 다운스트림(즉, 3')과 전이유전자의 업스트림(즉, 5')에 있다. 일부 실시형태에서, 인핸서는 전이유전자의 다운스트림(즉, 3')과 3' UTR의 업스트림(즉, 5')에 있다.

[0108] ***항생제 내성 유전자***

[0109] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 항생제 내성 유전자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 항생제 내성 유전자는 카나마이신, 스펙티노마이신(spectinomycin), 스트렙토마이신(streptomycin), 암피실린(ampicillin), 카르베니실린(carbenicillin), 블레오마이신(bleomycin), 에리트로마이신(erythromycin), 폴리믹신(polymyxin) B, 테트라시클린, 클로람페니콜(chloramphenicol), 네오마이신(neomycin), 제오신(zeocin), 또는 이의 유도체를 인코딩한다. 일부 실시형태에서, 항생제 내성 유전자는 카나마이신을 인코딩한다.

[0110] 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 97의 핵산 서열과 적어도 85%(예컨대, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 97의 핵산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 97의 핵산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 97의 핵산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 97의 핵산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 97의 핵산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 97의 핵산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 97의 핵산 서열을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0111] 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 122의 핵산 서열과 적어도 85%(예컨대, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 122의 핵산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 122의 핵산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 122의 핵산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 122의 핵산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 122의 핵산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오

타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 122의 핵산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 카나마이신 내성 유전자는 서열번호 122의 핵산 서열을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0112] **카나마이신 변이체 1**

[0113]
ATGGCTAAAATGAGAATATCACCGGAATTGAAAAAACTGATCG
AAAAATACCGCTGCGTAAAAGATACGGAAGGAATGTCTCCTGC
TAAGGTATATAAGCTGGTGGGAGAAAATGAAAACCTATATTTA
AAAATGACGGACAGCCGGTATAAAGGGACCACCTATGATGTGG

[0114]
AACGGGAAAAGGACATGATGCTATGGCTGGAAGGAAAGCTGCC
TGTTCCAAAGGTCCTGCACTTTGAACGGCATGATGGCTGGAGCA
ATCTGCTCATGAGTGAGGCCGATGGCGTCCTTTGCTCGGAAGAG
TATGAAGATGAACAAAGCCCTGAAAAGATTATCGAGCTGTATG
CGGAGTGCATCAGGCTCTTTCACTCCATCGACATATCGGATTGT
CCCTATACGAATAGCTTAGACAGCCGCTTAGCCGAATTGGATTA
CTTACTGAATAACGATCTGGCCGATGTGGATTGCGAAAACTGG
GAAGAAGACACTCCATTTAAAGATCCGCGCGAGCTGTATGATTT
TTTAAAGACGGAAAAGCCCGAAGAGGAACTTGTCTTTTCCCAC
GGCGACCTGGGAGACAGCAACATCTTTGTGAAAGATGGCAAAG
TAAGTGGCTTTATTGATCTTGGGAGAAGCGGCAGGGCGGACAA
GTGGTATGACATTGCCTTCTGCGTCCGGTCGATCAGGGAGGATA
TCGGGGAAGAACAGTATGTCGAGCTATTTTTTGACTTACTGGGG
ATCAAGCCTGATTGGGAGAAAATAAAATATTATATTTTACTGGA

[0115] TGAATTGTTTTAG

[0116] (서열번호 97)

[0117] **카나마이신 변이체 2**

TTAGAAAAACTCATCGAGCATCAAATGAAACTGCAATTTATTCA
TATCAGGATTATCAATACCATATTTTTGAAAAAGCCGTTTCTGT
AATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCCATAGGATGGCAA
GATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACTCGTCCAACATCAATA
CAACCTATTAATTTCCCCTCGTCAAAAATAAGGTTATCAAGTGA
GAAATCACCATGAGTGACGACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAA
AGCTTATGCATTTCTTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAGCCATT
ACGCTCGTCATCAAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTCA
TTCGTGATTGCGCCTGAGCGAGACGAAATACGCGATCGCTGTTA
AAAGGACAATTACAAACAGGAATCGAATGCAACCGGCGCAGG
AACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTCACCTGAATCAGGATA
TTCTTCTAATACCTGGAATGCTGTTTTCCCGGGGATCGCAGTGG
TGAGTAACCATGCATCATCAGGAGTACGGATAAAATGCTTGAT
GGTCGGAAGAGGCATAAATTCCGTCAGCCAGTTTAGTCTGACC
ATCTCATCTGTAACATCATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTC
AGAAACAACTCTGGCGCATCGGGCTTCCCATACAATCGATAGA
TTGTCGCACCTGATTGCCCGACATTATCGCGAGCCCATTTATAC
CCATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCGGCCTCGA

[0118] GCAAGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCAT

[0119] (서열번호 122)

[0120] ***Kozak 서열***

일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 Kozak 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 AAV2 Kozak 서열이다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 AAV8 Kozak 서열이다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 AAV-rh74 Kozak 서열이다. 예시적인 Kozak 서열은 하기 **표 1B**에 제시되어 있다.

표 1B. 예시적인 Kozak 서열

서열번호	서열
98	CAUUGUAUGUC
99	UCGUUUAUGGA
100	CAGUUUAUGGU
101	CAUUGUAUGGU
102	UAGUGUAUGCU
103	UCUUUUAUGUC
104	UGUUUUAUGUC
105	UAGUUUAUGUC
106	UAGUGUAUGUC
107	UAGCGCAUGGC
108	UGGUAUAUGGC
109	UAGUUUAUGGC
110	CAGUGUAUGGC
111	CAUUGUAUGGC
112	CCGUUUAUGGG
113	ACUUGUAUGGG
114	CAUUUUAUGGG
115	UAGUGUAUGGG
116	UAGUUUAUGGG
117	UGUUUUAUGGG
118	UCUUUUAUGGG
119	UAGUGUAUGGC
120	UGUUUUAUGGC
121	UCUUUUAUGGC

[0121]

[0122] 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 서열번호 98 내지 121 중 어느 하나의 핵산 서열과 적어도 85%(예컨대, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99%) 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 적어도 서열번호 98 내지 121 중 어느 하나의 핵산 서열과 85% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 적어도 서열번호 98 내지 121 중 어느 하나의 핵산 서열과 90% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 적어도 서열번호 98 내지 121 중 어느 하나의 핵산 서열과 95% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 적어도 서열번호 98 내지 121 중 어느 하나의 핵산 서열과 97% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 적어도 서열번호 98 내지 121 중 어느 하나의 핵산 서열과 98% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 적어도 서열번호 98 내지 121 중 어느 하나의 핵산 서열과 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Kozak 서열은 서열번호 98 내지 121 중 어느 하나의 핵산 서열을 갖는 서열을 포함한다.

[0123] ***αGD2-αCD3 전이유전자***

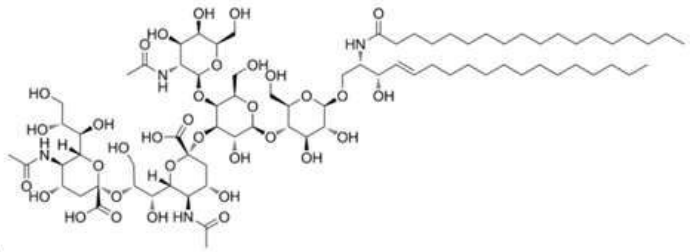
[0124] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 전이유전자는 GD2 결합 부위와 CD3 결합 부위를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 서열이다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 항-GD2 항체의 중쇄 가변 영역(VH)과 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, CD3 결합 부위는 항-CD3 항체의 VH와 VL을 포함한다.

[0125] 일부 실시형태에서, 전이유전자는 세포의 게놈에 혼입되거나 에피솜으로 발현될 수 있다.

[0126] ***GD2 결합 부위***

[0127] GD2 결합 부위는 하기 제시되는 바와 같은 구조를 갖는 디시알로강글리오시드에 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드 또는 둘 이상의 폴리펩타이드의 복합체를 포함할 수 있다.

[0128] GD2



[0129]

[0130] GalNAcβ1-4 (NeuAcα2-8NeuAcα2-3)Galβ1-4Glcβ1-1

[0131] 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 중쇄 가변 영역(VH)과 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. **표 2A**에는, 항-GD2 항체의 VH 및 VL 도메인과, 조합으로 GD2에 특이적으로 결합할 수 있는 이의 상응하는 상보성 결정 영역(CDR)이 열거되어 있다. **표 2B**에는, 항-GD2 항체의 VH 도메인과 VL 도메인의 상응하는 뉴클레오타이드 서열이 열거되어 있다.

표 2A - αGD2 VH/VL 및 CDR 아미노산 서열

식별자	VH	VL
hu3F8V5	QVQLVESGPGVVQPGRSLRLSCA VSGFSVTNYGVHWVRQPPGKGLE WLGVIWAGGITNYNSSVKGRLTIS KDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAV YYCASRGGHYGYALDYWGQGTL VTVSS (서열번호 1) CDR1: NYGVH (서열번호 70) CDR2: VIWAGGITNYNSAFMS (서열번호 71) CDR3: RGGHYGYALDY (서열번호 72)	KIVMTQTPATLSVSAGERVTITCR ASQSVSNHVTWYQQKPGQAPRLL IYSASNRYTGIPARFSGSGYGTEFT FTISSVQSEDFAVYFCQQDYSSFG QGTKLEIKR (서열번호 2) CDR1: KASQSVSNDVT (서열번호 73) CDR2: SASNRYS (서열번호 74) CDR3: QQDYSS (서열번호 75)
14G2a	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCR SSQSLVHRNGNTYLHWYLQKPG QSPKLLIHKVSNRFSGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCS QSTHVPPLTFGAGTKLEL (서열번호 3) CDR1: RSSQSLVHRNGNTYLH (서열번호 76) CDR2: KVSNRFS (서열번호 77) CDR3: SQSTHVPPLT (서열번호 78)	EVQLLQSGPELEKPGASVMISCKA SGSSFTGYNMNWVRQNIGKSLEW IGAIDPYYGGTSYNQKFKGRATLT VDKSSSTAYMHLKSLTSEDSAVY YCVSGMEYWGQGTSVTVSS (서열번호 4) CDR1: GYNMN (서열번호 79) CDR2: AIDPYYGGTSYNQKFKG (서열번호 80) CDR3: GMEY (서열번호 81)

[0132]

표 2B - α GD2 VH/VL 뉴클레오타이드 서열

식별자	뉴클레오타이드 서열
hu3F8V5 VH (서열번호 27)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGACCAGGAGTGGTGCAGCCTGGC AGGAGTCTGAGGCTGTCATGTGCTGTGTCAGGCTTCTCTGTGACCA ATTATGGAGTGCACTGGGTGAGACAGCCTCCAGGAAAGGGCCTGG AGTGGCTGGGGGTGATCTGGGCAGGAGGGATCACAAACTATAACA GCTCAGTGAAGGGAAGGCTGACAATCAGCAAAGATAATTCCAAGA ACACAGTCTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCTGAAGATACAG CAGTGTACTACTGTGCAAGCAGAGGAGGACACTATGGCTATGCCC TGGATTATTGGGGGCAGGGCACTCTGGTGACAGTGAGCAGT
hu3F8V5 VL (서열번호 28)	AAGATTGTGATGACCCAGACACCAGCCACACTGTCTGTCTCTGCTG GGGAGAGGGTCACAATCACCTGCAGGGCCAGCCAGTCTGTGAGCA ATCATGTGACATGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCCCCTAGGC TGCTGATCTACTCTGCTTCTAATAGGTACACAGGCATCCCTGCCAG GTTCTCTGGCAGTGGGTATGGCACAGAGTTCACATTTACTATCAGC TCAGTGCAGTCAGAGGACTTTGCTGTGTATTTTTGCCAGCAGGACT ACTCCTCTTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATTAAGAGA
14G2a VH (서열번호 29)	GATGTGGTGATGACACAGACCCCTCTGAGCCTGCCAGTGTCCCTGG GAGACCAGGCCTCTATCAGCTGCAGGTCCAGCCAGAGCCTGGTGC ACAGGAATGGCAACACATACCTGCACTGGTATCTGCAGAAGCCTG GCCAGAGTCCAAAGCTGCTCATCCACAAGGTGTCCAACAGATTTTC AGGAGTGCCAGACAGGTTCTCCGGCTCAGGCTCTGGAACTGACTTT ACACTCAAGATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGACTTGGGAGTGTAT TTCTGTAGCCAGAGCACCCATGTGCCTCCTCTGACTTTTGGGGCCG GTACTAAGCTGGAGCTG
14G2a VL (서열번호 30)	GAGGTGCAGCTGCTGCAGAGTGGGCCAGAGCTGGAGAAGCCCGG GGCCTCTGTGATGATCTCTTGCAAGGCCTCAGGAAGCTCCTTCACA GGTTACAACATGAATTGGGTGCGCCAGAATATTGGTAAAAGCCTG GAATGGATTGGAGCCATTGACCCCTATTATGGGGGCACTTCCTACA ATCAGAAGTTCAAAGGAAGAGCAACACTGACTGTGGATAAGTCCT CTAGCACAGCCTACATGCACCTGAAATCTCTGACAAGTGAGGATA GTGCAGTGTACTATTGTGTCTCAGGGATGGAATATTGGGGCCAGG GAACCTCTGTGACAGTGAGCAGT

[0133]

[0134] 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 Kabat(Kabat *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH Publication No. 91-3242, Bethesda 참조), IMGT 고유 넘버링 체계, Chothia(예컨대, Chothia C& Lesk A M, (1987), J. Mol. Biol. 196: 901-917 참조), MacCallum(MacCallum R M et al., (1996) J. Mol. Biol. 262: 732-745 참조), 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법에 따라 결정된, **표 2A**에 열거된 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2, 및 VH CDR3 서열에서 선택되는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2, 및 VH CDR3 서열을 포함한다.

[0135] 달리 지시되지 않는 한, **표 2A**에 제시된 CDR 서열은 Kabat 넘버링 체계에 따라 결정된 것이다.

[0136] 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 (i) 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (ii) 서열번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; (iii) 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3; (iv) 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (v) 서열번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (vi) 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다.

[0137] 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 (i) 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (ii) 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; (iii) 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3; (iv) 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (v) 서열번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; 및 (vi) 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3을 포함한다.

[0138] **표 2A**에는, 조합으로 GD2에 특이적으로 결합할 수 있는 예시적인 VH 도메인과 VL 도메인의 아미노산 서열이 추가로 열거되어 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 GD2 결합 부위는 **표 2A**에 열거된 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포

함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1 또는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2 또는 서열번호 4에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0139] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 GD2 결합 부위는 (i) 서열번호 1과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH와, (ii) 서열번호 2와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 1에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 2에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0140] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 GD2 결합 부위는 (i) 서열번호 3과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH와, (ii) 서열번호 4와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH

와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는 서열번호 3에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 4에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0141] 일부 실시형태에서, GD2 결합 부위는, 비제한적으로, 단일 사슬 가변 단편(scFv), 항체, Fab, Fab', $F(ab')_2$, 미니바디, 또는 나노바디(VHH)를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 각각 GD2에 특이적으로 결합하는 scFv 폴리펩타이드를 포함한다.

[0142] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 GD2 결합 부위는 scFv 형식이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 GD2 결합 scFv는 VH 도메인과 VL 도메인을 작동 가능하게 연결하는 scFv 링커 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어, GD2 결합 scFv는, N-말단에서 C-말단 방향으로, 항-GD2 항체의 VL 도메인, scFv 링커 폴리펩타이드 및 항-GD2 항체의 VH 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에서, GD2 결합 scFv는, N-말단에서 C-말단 방향으로, 항-GD2 항체의 VH 도메인, scFv 링커 폴리펩타이드 및 항-GD2 항체의 VL 도메인을 포함한다.

[0143] 일부 실시형태에서, scFv 링커 폴리펩타이드는 **표 3A**의 링커 서열에서 선택되는 서열을 포함한다.

표 3A - scFv 링커 펩타이드 서열

scFv 링커	서열
링커 1 (서열번호 20)	GGGGSGGGGSGGGGS
링커 2 (서열번호 21)	GGGGSGGGGSGGGGSGGGG
링커 3 (서열번호 22)	GGGSGGGGSGGGGS
링커 4 (서열번호 23)	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
링커 5 (서열번호 24)	GGSGGSGGSGGS

[0144]

[0145] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 GD2 결합 scFv는 scFv 링커 펩타이드의 N-말단, VH 영역의 C-말단, 또는 VL 도메인의 C-말단에 융합된 스페이서 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서 펩타이드는 **표 3B**에 열거된 스페이서 서열에서 선택되는 서열을 포함한다.

표 3B - 스페이서 펩타이드 서열

스페이서	서열
스페이서 1 (서열번호 82)	ASTKGP
스페이서 2 (서열번호 83)	TKLEIKR
스페이서 3 (서열번호 84)	TKLELK

[0146]

[0147] **표 4A**에는, 예시적인 GD2 결합 scFv의 아미노산 서열이 열거되어 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중

특이적 융합 단백질은 **표 4A**에 열거된 scFv 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일한 서열을 포함하는 GD2 결합 scFv를 포함한다. **표 4B**에는, 예시적인 GD2 결합 scFv의 상응하는 뉴클레오타이드 서열이 열거되어 있다.

표 4A - GD2 결합 scFv 아미노산 서열

식별자	scFv 서열
hu3F8V5 scFv (VL + VH) (서열번호 5)	KIVMTQTPATLSVSAGERVTITCRASQSVSNHVTWYQQKPGQAPR LLIYSASNRYTGIPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFCQQDYS SFGQGTKLEIKR*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQLVESGPGVVQPGRSL RLSCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWAGGITNYNSSV KGRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCASRGGHYGYALD YWGQGTLVTVSS
hu3F8V5 scFv (VH + VL) (서열번호 6)	QVQLVESGPGVVQPGRSLRLSCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKGL EWLGVIWAGGITNYNSSVKGRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDT AVYYCASRGGHYGYALDYWGQGTLVTVSS*GGGGSGGGGSGGGG S*KIVMTQTPATLSVSAGERVTITCRASQSVSNHVTWYQQKPGQAPR LLIYSASNRYTGIPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFCQQDYS SFGQGTKLEIKR
14G2a scFv (VL + VH) (서열번호 7)	EVQLLQSGPELEKPGASVMISCKASGSSFTGYNMNWVRQNIGKSLE WIGAIDPYYGGTSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSLTSEDS AVYYCVSGMEYWGQGTSVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*DVVMTQ TPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLI HKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVP PLTFGAGTKLEL
14G2a scFv (VH + VL) (서열번호 8)	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLQKP GQSPKLLIHKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYF CSQSTHVPPLTFGAGTKLEL*GGGGSGGGGSGGGGS*EVQLLQSGPEL EKPGASVMISCKASGSSFTGYNMNWVRQNIGKSLEWIGAIDPYYG GTSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSLTSEDSAVYYCVSGME YWGQGTSVTVSS

[0148] ** 밑줄친 이탤릭체* 부분은 scFv 링커 서열을 나타냄.

표 4B - GD2 결합 scFv 뉴클레오타이드 서열

식별자	뉴클레오타이드 서열
hu3F8V5 scFv - (VL-VH) (서열번호 31)	AAGATTGTGATGACCCAGACACCAGCCACACTGTCTGTCTCTGC TGGGGAGAGGGTCACAATCACCTGCAGGGCCAGCCAGTCTGTG AGCAATCATGTGACATGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCCC CTAGGCTGCTGATCTACTCTGCTTCTAATAGGTACACAGGCATC CCTGCCAGGTTCTCTGGCAGTGGGTATGGCACAGAGTTCACATT TACTATCAGCTCAGTGCAGTCAGAGGACTTTGCTGTGTATTTTTG CCAGCAGGACTACTCCTCTTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAA TTAAGAGAGGAGGTGGGGGGTCTGGGGGAGGGGGCAGTGGAG GGGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGACCAGGAGT GGTGCAGCCTGGCAGGAGTCTGAGGCTGTCATGTGCTGTGTCAG GCTTCTCTGTGACCAATTATGGAGTGCACTGGGTGAGACAGCCT CCAGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTGGGGGTGATCTGGGCAGGAG GGATCACAAACTATAACAGCTCAGTGAAGGGAAGGCTGACAAT CAGCAAAGATAATTCCAAGAACACAGTCTATCTGCAGATGAAC AGCCTGAGGGCTGAAGATACAGCAGTGTACTACTGTGCAAGCA GAGGAGGACACTATGGCTATGCCCTGGATTATTGGGGGCAGGG CACTCTGGTGACAGTGAGCAGT
14G2a scFv (VL-VH) (서열번호 32)	GAGGTGCAGCTGCTGCAGAGTGGGCCAGAGCTGGAGAAGCCCG GGGCCTCTGTGATGATCTCTTGCAAGGCCTCAGGAAGCTCCTTC ACAGGTTACAACATGAATTGGGTGCGCCAGAATATTGGTAAAA GCCTGGAATGGATTGGAGCCATTGACCCCTATTATGGGGGCACT TCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGAAGAGCAACACTGACTGTGG ATAAGTCCTCTAGCACAGCCTACATGCACCTGAAATCTCTGACA AGTGAGGATAGTGCAGTGTACTATTGTGTCTCAGGGATGGAATA TTGGGGCCAGGGAACCTCTGTGACAGTGAGCAGTGGAGGGGGA GGCTCAGGAGGGGGAGGGTCCGGGGGCGGAGGGAGTGATGTGG TGATGACACAGACCCCTCTGAGCCTGCCAGTGTCCCTGGGAGAC CAGGCCTCTATCAGCTGCAGGTCCAGCCAGAGCCTGGTGCACAG GAATGGCAACACATACCTGCACTGGTATCTGCAGAAGCCTGGCC AGAGTCCAAAGCTGCTCATCCACAAGGTGTCCAACAGATTTTCA GGAGTGCCAGACAGGTTCTCCGGCTCAGGCTCTGGAACTGACTT TACACTCAAGATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGACTTGGGAGTG TATTTCTGTAGCCAGAGCACCCATGTGCCTCCTCTGACTTTTGGG GCCGGTACTAAGCTGGAGCTG

*밑줄친 부분은 scFv 링커 서열을 나타냄.

[0149]

[0150] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 GD2에 특이적으로 결합하는 scFv를 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 5와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 5와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 5와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 5와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 5와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 5와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 5와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 5와 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0151] 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 6과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한

다.

[0152] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 GD2에 특이적으로 결합하는 scFv를 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 7과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 7과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 7과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 7과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 7과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 7과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 7과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 7과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0153] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 8과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 GD2에 특이적으로 결합하는 scFv를 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 8과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 8과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 8과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 8과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 8과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 8과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 8과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, GD2에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 8과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0154] ***CD3 결합 부위***

[0155] 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 T세포의 표면에 있는 CD3에 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드 또는 둘 이상의 폴리펩타이드의 복합체를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 성숙 T림프구, 예를 들어 αβ T세포, γδ T세포, NK-T세포, 점막 관련 불변 T(MAIT) 세포, 및 이들의 표현형 서브세트에서 발현되는 CD3에 결합한다. 일부 실시형태에서, CD3의 결합은 GD2에 브릿징될 때 T세포 활성화를 유도한다.

[0156] 본원에 사용된 CD3 결합 부위는, 일부 실시형태에서, CD3(서열번호 69)에 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드 또는 둘 이상의 폴리펩타이드의 복합체이다. 예를 들어, CD3 결합 부위는 CD3ε 사슬에 결합한다.

[0157] **CD3 서열(ε 사슬):**

[0158] MRWNTFWGILCLSLLAVGTCQDDAENIEYKVSISGTSVELTCPLDSDE
NLKWEKNGQELPQKHDKHLVLQDFSEVEDSGYYVCYTPASNKNTYL
YLKARVCEYCVEVDLTAVAIIIIVDICITLGLLMVIYYWSKNRKAKAKP
VTRGTGAGSRPRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRAV

[0159] (서열번호 69)

[0160] 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 중쇄 가변 영역(VH)과 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. **표 5A**에는, 항-CD3 항체의 VH 및 VL 영역과, 조합으로 CD3에 특이적으로 결합할 수 있는 이의 상응하는 상보성 결정 영역(CDR)이 열거되어 있다. **표 5B**에는, 항-CD3 항체의 VH 영역과 VL 영역의 상응하는 뉴클레오타이드 서열이 열거되어 있다.

표 5A - α CD3 VH/VL 서열 및 CDR

식별자	VH	VL
L2K07	DIKLQQSGAELARPGASVKMSC KTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQG LEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDK ATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYCARYYDDHYCLDYWGQ GTTLTVSSVE (서열번호 14) CDR1: RYTMH (서열번호 85) CDR2: YINPSRGYTNYNQKFKD (서열번호 86) CDR3: YYDDHYCLDY (서열번호 87)	GGVDDIQLTQSPAIMSASPGEK VTMTCRASSSVSYMNWYQQK SGTSPKRWIYDTSKVASGVPYR FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAA TYYCQQWSSNPLTFGAGTKLE LK (서열번호 15) CDR1: RASSSVSYMN (서열번호 88) CDR2: DTSKVAS (서열번호 89) CDR3: QQWSSNPLT (서열번호 90)
huOKT3	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSC KASGYTFTRYTMHWVRQAPGK GLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKD RFTISRDNSKNTAFLQMDSLRPE DTGVYFCARYYDDHYCLDYWG QGTPVTVSS (서열번호 18) CDR1: RYTMH (서열번호 91) CDR2: YINPSRGYTNYNQKFKD (서열번호 92) CDR3: YYDDHYCLDY (서열번호 93)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC SASSSVSYMNWYQQTPGKAPK RWIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQ WSSNPFTFGQGTKLQITR (서열번호 19) CDR1: SASSSVSYMN (서열번호 94) CDR2: DTSKLAS (서열번호 95) CDR3: QQWSSNPFT (서열번호 96)

[0161]

표 5B - α CD3 VH/VL 뉴클레오타이드 서열

식별자	뉴클레오타이드 서열
L2K07 VH (1) (서열번호 33)	GACATCAAACTGCAGCAGAGTGGGGCTGAGCTGGCCAGACCT GGAGCCTCTGTCAAGATGAGCTGCAAAACCTCAGGCTACACAT TCACCAGATACACCATGCACTGGGTGAAACAGAGACCTGGAC AGGGCCTGGAGTGGATTGGCTACATTAACCCATCAAGAGGCT ATACCAACTATAACCAGAAATTCAAGGACAAGGCCACCCTGA CCACAGACAAAAGCAGCAGTACAGCTTACATGCAGCTGTCCTC CCTGACCTCTGAGGACTCTGCTGTGTACTATTGTGCCAGATAC TATGATGACCACTACTGCCTGGATTATTGGGGCCAGGGCACAA CACTGACAGTGTCTTCTGTGGAG
L2K07 VL (1) (서열번호 34)	GGTGGAGTGGATGACATCCAGCTCACACAGTCCCCTGCCATCA TGTCTGCCTCCCCTGGAGAGAAGGTGACAATGACCTGCAGAGC AAGCTCATCTGTTTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGTCT GGGACAAGCCCCAAAAGGTGGATCTATGACACCAGCAAAGTG GCCTCTGGAGTGCCTTACAGATTCTCTGGATCTGGATCTGGCA CCAGCTATTCTCTGACCATCTCCAGTATGGAAGCTGAGGATGC TGCCACCTACTACTGCCAGCAGTGGTCATCTAATCCCCTGACC TTTGGAGCTGGAACCAAACTGGAGCTGAAG
L2K07 VH (2) (서열번호 35)	GATATTAAGCTCCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCCAGACCTG GAGCCTCTGTGAAGATGAGTTGCAAGACCTCTGGCTACACCTT TACCAGATACACAATGCATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACA GGGGCTGGAATGGATTGGCTATATCAACCCATCTAGAGGCTAT ACCAACTACAACCAGAAGTTTAAGGATAAAGCCACACTGACC ACAGACAAGAGCTCCTCCACAGCCTATATGCAGCTGTCTAGTC TGACCTCTGAGGATTCTGCTGTGTATTATTGTGCCAGGTATTAT GATGACCATTACTGCCTGGATTACTGGGGCCAGGGCACCACTC TGACAGTGAGCTCTGTGGAG
L2K07 VL (2) (서열번호 36)	GGGGGAGTGGATGACATCCAACTGACCCAGTCCCCTGCCATCA TGTCTGCCTCCCCAGGGGAAAAGGTCACCATGACCTGTAGAGC CTCTTCCTCTGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGTCT GGCACCTCTCCTAAGAGGTGGATTTATGATACTAGCAAGGTGG CTTCTGGGGTGCCATACAGGTTTTCTGGATCTGGTTCTGGAAC CTCCTACTCCCTGACAATCTCCTCCATGGAAGCTGAGGATGCA GCCACTTACTACTGTCAGCAGTGGAGTTCCAATCCACTCACTT TTGGGGCAGGCACAAAACTGGAGCTGAA
L2K07 VH (3) (서열번호 37)	GACATCAAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCTAGACCT GGAGCCTCTGTGAAGATGTCCTGTAAGACCTCTGGTTACACAT TTACCAGATATACTATGCATTGGGTGAAACAGAGACCAGGCC AGGGACTGGAGTGGATTGGGTACATCAACCCTTCCAGAGGCT ACACCAATTACAATCAGAAGTTTAAGGATAAAGCCACTCTGAC CACTGACAAGTCCAGCAGCACAGCTTACATGCAGCTGAGCTCC CTGACATCTGAGGACTCTGCTGTGTATTATTGTGCAAGATATT ATGATGATCACTATTGCCTGGACTACTGGGGGCAGGGCACTAC ACTGACAGTGTCCTCTGTGGAA
L2K07 VL (3) (서열번호 38)	GGAGGAGTGGATGATATCCAGCTGACACAGAGCCCTGCAATC ATGTCTGCTTCTCCTGGAGAGAAAGTGACCATGACATGCAGAG

[0162]

	CCTCATCCTCTGTGAGCTATATGAATTGGTACCAACAGAAGTC TGGGACATCCCCCAAGAGATGGATCTATGATACAAGCAAAGT GGCCTCTGGGGTGCCATACAGATTCTCTGGATCTGGCTCTGGA ACATCCTACAGCCTGACTATTAGCAGTATGGAGGCTGAGGATG CTGCCACCTACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAACCCACTGAC CTTTGGAGCTGGAACCAAACTGGAGCTGAAG
L2K07 VH (4) (서열번호 39)	GACATCAAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCCAGACCT GGAGCCTCAGTGAAGATGAGCTGCAAAACATCTGGATACACC TTCACCAGATACACCATGCACTGGGTCAAGCAGAGACCTGGA CAGGGACTGGAGTGGATTGGCTATATTAACCCTTCTAGAGGCT ACACCAACTACAACCAAAAGTTCAAGGACAAAGCCACACTGA CCACAGACAAGTCCTCCAGCACTGCATACATGCAGTTGAGTAG CCTGACCTCAGAGGATTCTGCTGTGTACTATTGTGCTAGGTATT ATGATGACCATTACTGTCTGGATTATTGGGGACAGGGCACCAC CCTGACAGTGAGCTCTGTGGAA
L2K07 VL (4) (서열번호 40)	GGAGGAGTGGATGACATTCAGCTGACCCAGAGCCCTGCCATT ATGTCTGCATCACCAGGAGAGAAGGTGACCATGACATGCAGG GCAAGTTCTTCTGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGT CTGGAACCTCCCCTAAAAGATGGATCTATGATACCAGTAAGGT GGCATCAGGAGTGCCCTACAGATTCTCTGGGTCTGGATCTGGA ACAAGCTACTCCCTGACCATCTCTAGCATGGAGGCTGAGGATG CTGCCACCTACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAACCCCCTGAC ATTTGGGGCTGGGACCAAGCTGGAACTGAAA
OKT3 VH (서열번호 50)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGGAGGGGTGGTTCAGCCT GGCAGAAGCCTGAGACTGTCATGCAAGGCCTCAGGGTATACTT TCACCAGATATACAATGCACTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCA AGGGACTGGAATGGATTGGCTACATTAACCCATCTAGGGGAT ATACAAATTATAATCAGAAATTCAAGGACAGATTTACAATCTC CAGGGACAACTCTAAGAATACTGCCTTTCTGCAGATGGACTCT CTGAGGCCTGAGGACACTGGAGTGTATTTCTGTGCCAGATACT ATGATGACCATTATTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGCACACC TGTGACAGTGTCCAGT
OKT3 VL (서열번호 51)	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCAAGTAGCCTGAGTGCCTCAG TGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGCTCTGCAAGCAGCTCTGT GTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGACACCAGGCAAGGCCCC CAAGAGGTGGATTTATGACACCTCCAAGCTGGCTTCTGGGGTG CCAAGCAGATTCTCAGGATCTGGAAGTGGGACAGACTACACA TTTACCATCAGTTCACTGCAGCCTGAGGACATTGCTACCTACT ATTGTCAGCAGTGGTCCTCCAACCCCTTCACCTTTGGCCAGGG AACCAAGCTGCAGATCACCAGG

[0163]

[0164] 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는, IMGT 고유 넘버링 체계, Kabat(Kabat *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH Publication No. 91-3242, Bethesda 참조), Chothia(예컨대, Chothia C& Lesk A M, (1987), J. Mol. Biol. 196: 901-917 참조), MacCallum(MacCallum R M et al., (1996) J. Mol. Biol. 262: 732-745 참조), 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법에 따라 결정된, **표 5A**에 열거된 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함한다.

[0165] 달리 지시되지 않는 한, **표 5A**에 제시된 CDR 서열은 Kabat 넘버링 체계에 따라 결정된 것이다.

[0166] 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 (i) 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (ii) 서열번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; (iii) 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3; (iv) 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (v) 서열번호 89의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (vi) 서열번호 90의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함한다.

[0167] 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 (i) 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1; (ii) 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2; (iii) 서열번호 93의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3; (iv) 서열번호 94의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1; (v) 서열번호 95의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2; 및 (vi) 서열번호 96의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3을 포함한다.

[0168] **표 5A**에는, 조합으로 CD3에 특이적으로 결합할 수 있는 예시적인 VH 도메인과 VL 도메인의 아미노산 서열이 추가로 열거되어 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CD3 결합 부위는 **표 5A**에 열거된 VH 서열 및 VL 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0169] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CD3 결합 부위는 (i) 서열번호 14와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도

90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH와, (ii) 서열번호 15와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 14에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 15에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0170] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CD3 결합 부위는 (i) 서열번호 18과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH와, (ii) 서열번호 19와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열과 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 서열번호 18에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VH와, 서열번호 19에 따른 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0171] 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는, 비제한적으로, 단일 사슬 가변 단편(scFv), 항체, Fab, Fab', $F(ab')_2$,

미니바디, 또는 나노바디(VHH)를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 각각 CD3에 특이적으로 결합하는 scFv 폴리펩타이드를 포함한다.

[0172] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CD3 결합 부위는 scFv 형식이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 CD3 결합 scFv는 VH 도메인과 VL 도메인을 작동 가능하게 연결하는 scFv 링커 폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, CD3 결합 scFv는, N-말단에서 C-말단 방향으로, 항-CD3 항체의 VL 도메인, scFv 링커 폴리펩타이드 및 항-CD3 항체의 VH 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에서, CD3 결합 scFv는, N-말단에서 C-말단 방향으로, 항-CD3 항체의 VH 도메인, scFv 링커 폴리펩타이드 및 항-CD3 항체의 VL 도메인을 포함한다.

[0173] 일부 실시형태에서, scFv 링커 폴리펩타이드는 **표 3A**의 링커 서열에서 선택되는 서열을 포함한다.

[0174] **표 6A**에는, 예시적인 CD3 결합 scFv의 아미노산 서열이 열거되어 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 **표 6A**에 열거된 scFv 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일한 서열을 포함하는 CD3 결합 scFv를 포함한다. **표 6B**에는, 예시적인 CD3 결합 scFv의 상응하는 뉴클레오타이드 서열이 열거되어 있다.

표 6A - α CD3 scFv 아미노산 서열

식별자	scFv
L2K07 scFv (VH-VL) (서열번호 16)	DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPG QGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGS GGSGGSGGVDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMN WYQQKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSM EAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLEL
huOKT3 scFv (VH-VL) (서열번호 17)	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPG KGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDRFTISRDNSKNTAFLQMDSL RPEDTGVYFCARYYDDHYCLDYWGQGTPVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQ QTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPED IATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQITR

[0175] *밑줄친 부분은 scFv 링커 서열을 나타냄.

표 6B - α CD3 scFv 뉴클레오타이드 서열

식별자	scFv
L2K07 scFv (VH-VL) (서열번호 46)	GACATCAAACTGCAGCAGAGTGGGGCTGAGCTGGCCAGACC TGGAGCCTCTGTCAAGATGAGCTGCAAAACCTCAGGCTACA CATTCACCAGATACACCATGCACTGGGTGAAACAGAGACCT GGACAGGGCCTGGAGTGGATTGGCTACATTAACCCATCAAG AGGCTATACCAACTATAACCAGAAATTCAAGGACAAGGCCA CCCTGACCACAGACAAAAGCAGCAGTACAGCTTACATGCAG CTGTCCTCCCTGACCTCTGAGGACTCTGCTGTGTACTATTGTG CCAGATACTATGATGACCACTACTGCCTGGATTATTGGGGCC AGGGCACAACACTGACAGTGTCTTCTGTGGAGGGTGGCTCA GGTGGGTCTGGGGGCTCTGGAGGCTCTGGTGGAGTGGATGA CATCCAGCTCACACAGTCCCCTGCCATCATGTCTGCCTCCCC TGGAGAGAAGGTGACAATGACCTGCAGAGCAAGCTCATCTG TTTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGTCTGGGACAAGCC CCAAAAGGTGGATCTATGACACCAGCAAAGTGGCCTCTGGA GTGCCTTACAGATTCTCTGGATCTGGATCTGGCACCAGCTAT TCTCTGACCATCTCCAGTATGGAAGCTGAGGATGCTGCCACC TACTACTGCCAGCAGTGGTCATCTAATCCCCTGACCTTTGGA GCTGGAACCAAACTGGAGCT
L2K07 (2) scFv (VH-VL) (서열번호 47)	GATATTAAGCTCCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCCAGACCT GGAGCCTCTGTGAAGATGAGTTGCAAGACCTCTGGCTACACC TTTACCAGATACACAATGCATTGGGTGAAGCAGAGGCCAGG ACAGGGGCTGGAATGGATTGGCTATATCAACCCATCTAGAG GCTATACCAACTACAACCAGAAGTTTAAGGATAAAGCCACA CTGACCACAGACAAGAGCTCCTCCACAGCCTATATGCAGCTG TCTAGTCTGACCTCTGAGGATTCTGCTGTGTATTATTGTGCCA GGTATTATGATGACCATTACTGCCTGGATTACTGGGGCCAGG GCACCACTCTGACAGTGAGCTCTGTGGAGGGGGGGTCTGGG GGCTCTGGAGGCTCTGGGGGCAGTGGGGGAGTGGATGACAT CCAACTGACCCAGTCCCCTGCCATCATGTCTGCCTCCCCAGG GGAAAAGGTCACCATGACCTGTAGAGCCTCTTCCTCTGTGTC CTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGTCTGGCACCTCTCCTAA GAGGTGGATTTATGATACTAGCAAGGTGGCTTCTGGGGTGCC ATACAGGTTTTCTGGATCTGGTTCTGGAACCTCCTACTCCCTG ACAATCTCCTCCATGGAAGCTGAGGATGCAGCCACTTACTAC TGT
L2K07 (3) scFv (VH-VL) (서열번호 48)	GACATCAAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCTAGACC TGGAGCCTCTGTGAAGATGTCCTGTAAGACCTCTGGTTACAC ATTTACCAGATATACTATGCATTGGGTGAAACAGAGACCAG GCCAGGGACTGGAGTGGATTGGGTACATCAACCCTTCCAGA GGCTACACCAATTACAATCAGAAGTTTAAGGATAAAGCCAC TCTGACCACTGACAAGTCCAGCAGCACAGCTTACATGCAGCT GAGCTCCCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTGTATTATTGTGC AAGATATTATGATGATCACTATTGCCTGGACTACTGGGGGCA GGGCACTACACTGACAGTGTCCTCTGTGGAAGGAGGTTCTGG AGGCTCTGGAGGCTCTGGGGGCTCTGGAGGAGTGGATGATA TCCAGCTGACACAGAGCCCTGCAATCATGTCTGCTTCTCCTG

[0176]

	GAGAGAAAGTGACCATGACATGCAGAGCCTCATCCTCTGTG AGCTATATGAATTGGTACCAACAGAAGTCTGGGACATCCCCC AAGAGATGGATCTATGATACAAGCAAAGTGGCCTCTGGGGT GCCATACAGATTCTCTGGATCTGGCTCTGGAACATCCTACAG CCTGACTATTAGCAGTATGGAGGCTGAGGATGCTGCCACCTA CTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAACCCACTGACCTTTGGAGC TGGAACCAAACTGGAGCTGAAG
L2K07 (4) scFv (VH-VL) (서열번호 49)	GACATCAAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCCAGACC TGGAGCCTCAGTGAAGATGAGCTGCAAAACATCTGGATACA CCTTCACCAGATACACCATGCACTGGGTCAAGCAGAGACCT GGACAGGGACTGGAGTGGATTGGCTATATTAACCCTTCTAGA GGCTACACCAACTACAACCAAAAGTTCAAGGACAAAGCCAC ACTGACCACAGACAAGTCCTCCAGCACTGCATACATGCAGTT GAGTAGCCTGACCTCAGAGGATTCTGCTGTGTACTATTGTGC TAGGTATTATGATGACCATTACTGTCTGGATTATTGGGGACA GGGCACCACCCTGACAGTGAGCTCTGTGGAAGGAGGCTCTG GAGGCTCTGGAGGCTCTGGAGGCAGTGGAGGAGTGGATGAC ATTCAGCTGACCCAGAGCCCTGCCATTATGTCTGCATCACCA GGAGAGAAGGTGACCATGACATGCAGGGCAAGTTCTTCTGT GTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGTCTGGAACCTCCCC TAAAAGATGGATCTATGATACCAGTAAGGTGGCATCAGGAG TGCCCTACAGATTCTCTGGGTCTGGATCTGGAACAAGCTACT CCCTGACCATCTCTAGCATGGAGGCTGAGGATGCTGCCACCT ACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAACCCCCTGACATTTGGGG CTGGGACCAAGCTGGAACTGAAA
huOKT3 scFv (VH-VL) (서열번호 52)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGGAGGGGTGGTTCAGCC TGGCAGAAGCCTGAGACTGTCATGCAAGGCCTCAGGGTATA CTTTCACCAGATATACAATGCACTGGGTGAGACAGGCCCCA GGCAAGGGACTGGAATGGATTGGCTACATTAACCCATCTAG GGGATATACAAATTATAATCAGAAATTCAAGGACAGATTTA CAATCTCCAGGGACAACTCTAAGAATACTGCCTTTCTGCAGA TGGACTCTCTGAGGCCTGAGGACACTGGAGTGTATTTCTGTG CCAGATACTATGATGACCATTATTGTCTGGATTATTGGGGCC AGGGCACACCTGTGACAGTGTCCAGTGGAGGAGGAGGCTCA GGGGGAGGGGGCTCTGGAGGGGGAGGCTCTGATATCCAGAT GACCCAGTCCCCAAGTAGCCTGAGTGCCTCAGTGGGAGACA GAGTGACCATCACCTGCTCTGCAAGCAGCTCTGTGTCCTACA TGAACTGGTATCAGCAGACACCAGGCAAGGCCCCCAAGAGG TGGATTTATGACACCTCCAAGCTGGCTTCTGGGGTGCCAAGC AGATTCTCAGGATCTGGAAGTGGGACAGACTACACATTTACC ATCAGTTCACTGCAGCCTGAGGACATTGCTACCTACTATTGT CAGCAGTGGTCCTCCAACCCCTTCACCTTTGGCCAGGGAACC AAGCTGCAGATCACCAGG

[0177] *밑줄친 부분은 scFv 링커 서열을 나타냄.

[0178] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CD3에 특이적으로 결합하는 scFv를 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 16과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 16과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 16과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 16과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 16과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 16과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 16과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 16과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0179] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 CD3에 특이적으로 결합하는 scFv를 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 17과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 17과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 17과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 17과 적어도

약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 17과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 17과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 17과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3에 특이적으로 결합하는 scFv는 서열번호 17과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0180] ***예시적인 αGD2-αCD3 이중특이적 융합 단백질***

[0181] 링커 펩타이드를 통해 CD3 결합 부위에 융합된 GD2 결합 부위를 포함하는 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질의 예가 하기에 열거되어 있다.

[0182] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) **표 2A**에 열거된 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열에서 선택되는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) **표 7**에서 선택되는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) **표 5A**에 열거된 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) **표 5A**에 열거된 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위; (ii) **표 7**에서 선택되는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) **표 2A**에 열거된 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열에서 선택되는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위를 포함한다. GD2 결합 부위와 CD3 결합 부위의 순서는 제한되지 않는다. 예를 들어, GD2 결합 부위는 이중특이적 융합 단백질의 아미노 말단에 있고, CD3 결합 부위는 이중특이적 융합 단백질의 카르복시 말단에 있다. 일부 실시형태에서, CD3 결합 부위는 이중특이적 융합 단백질의 아미노 말단에 있고, GD2 결합 부위는 이중특이적 융합 단백질의 카르복시 말단에 있다.

표 7 - 링커 펩타이드

[0183]

링커	서열
링커 1 (서열번호 20)	GGGGSGGGGSGGGGS
링커 6 (서열번호 25)	GGGGS

[0184] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0185] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 각각, 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; (ii) 서열번호 29에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0186] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0187] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호

81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0188] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, **표 2A**에 열거된 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) **표 7**에서 선택되는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) **표 5A**에 열거된 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0189] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0190] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0191] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0192] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0193] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) **표 4A**에 열거된 scFv 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) **표 7**에서 선택되는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) **표 6A**에 열거된 scFv 서열과 적어도 85%(예컨대, 적

어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0194] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0195] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0196] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0197] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0198] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 scFv 링커 펩타이드의 N-말단, GD2 scFv의 VH 도메인의 C-말단, GD2 scFv의 VL 도메인의 C-말단, CD3 scFv의 VH 도메인의 C-말단, 및/또는 CD3 scFv의 VL 도메인의 C-말단에 융합된 스페이서 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 스페이서 펩타이드는 **표 3B**에 열거된 스페이서 서열에서 선택되는 서열을 포함한다.

[0199] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 **표 8A**에 열거된 서열에 상응하는 아미노산 서열을 갖는다. **표 8B**에는, 이중특이적 융합 단백질의 상응하는 뉴클레오타이드 서열이 열거되어 있다.

표 8A - 이중특이적 융합 단백질 아미노산 서열

식별자	아미노산 서열
hu3F8V5 scFv-스페이서-huOKT3 scFv (서열번호 9)	KIVMTQTPATLSVSAGERVTITCRASQSVSNHVTWYQQKPGQA PRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFCQ QDYSSFGQGTKLEIKR*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQLVESGPGVV QPGRSLRLSCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWAG GITNYNSSVKGRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAS RGGHYGYALDYWGQGTLVTVSS**ASTKGP**GGGGSGGGGSGGG GSQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQA PGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDRFTISRDNSKNTAFLQM DSLRPEDTGVYFCARYYDDHYCLDYWGQGTPVTVSS*GGGGSG GGGSGGGGS*DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWY QQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPE DIATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQITR
hu3F8V5 scFv-huOKT3 scFv (서열번호 10)	KIVMTQTPATLSVSAGERVTITCRASQSVSNHVTWYQQKPGQA PRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFCQ QDYSSFGQGTKLEIKR*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQLVESGPGVV QPGRSLRLSCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWAG GITNYNSSVKGRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAS RGGHYGYALDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQVQL VQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLE WIGYINPSRGYTNYNQKFKDRFTISRDNSKNTAFLQMDSLRPED TGVYFCARYYDDHYCLDYWGQGTPVTVSS*GGGGSGGGGSGG GGS*DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGK APKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYY CQQWSSNPFTFGQGTKLQITR
hu3F8V5 scFv-L2K07 scFv (서열번호 11)	KIVMTQTPATLSVSAGERVTITCRASQSVSNHVTWYQQKPGQA PRLLIYSASNRYTGIPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFCQ QDYSSFGQGTKLEIKR*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQLVESGPGVV QPGRSLRLSCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWAG GITNYNSSVKGRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAS RGGHYGYALDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIKLQQSGAELARPG ASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGY TNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYY DDHYCLDYWGQGTTLTVSSVE*GGSGGSGGSGGS*GGVDDIQLTQ SPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYD TSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSN PLTFGAGTKLELK

[0200]

	QPGRSLRLSCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWAG GITNYNSSVKGRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAS RGGHYGYALDYWGQGTLVTVSSGGGGSDIKLQQSGAELARPG ASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGY TNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYY DDHYCLDYWGQGTTLTVSSVE*GGSGGSGGSGGS*GGVDDIQLTQ SPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYD TSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSN PLTFGAGTKLELK
14G2a scFv-huOKT3 scFv (서열번호 12)	EVQLLQSGPELEKPGASVMISCKASGSSFTGYNMNWVRQNIGK SLEWIGAIDPYYGGTSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSL TSEDSAVYYCVSGMEYWGQGTSVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS* DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLQ KPGQSPKLLIHKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDL GVYFCSQSTHVPPLTFGAGTKLEL*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQL VQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLE WIGYINPSRGYTNYNQKFKDRFTISRDNSKNTAFLQMDSLRPED TGVYFCARYYDDHYCLDYWGQGTPVTVSS*GGGGSGGGGSGG GGS*DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGK APKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYY CQQWSSNPFTFGQGTKLQITR
14G2a scFv-L2K07 scFv (서열번호 13)	EVQLLQSGPELEKPGASVMISCKASGSSFTGYNMNWVRQNIGK SLEWIGAIDPYYGGTSYNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMHLKSL TSEDSAVYYCVSGMEYWGQGTSVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS* DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWYLQ KPGQSPKLLIHKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDL GVYFCSQSTHVPPLTFGAGTKLEL*GGGGS*DIKLQQSGAELARPG ASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGY TNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYY DDHYCLDYWGQGTTLTVSSVE*GGSGGSGGSGGS*GGVDDIQLTQ SPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYD TSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSN PLTFGAGTKLELK

* *밑줄친 이탤릭체* 부분은 scFv 링커 서열을 나타내고; 밑줄친 부분은 링커 서열을 나타내고; **볼드체** 부분은 스페이서 서열을 나타냄.

[0201]

표 8B - 이중특이적 융합 단백질 뉴클레오타이드 서열

식별자	뉴클레오타이드 서열
hu3F8V5 scFv-스페이서-huOKT3 scFv (서열번호 41)	AAGATTGTGATGACCCAGACACCAGCCACACTGTCTGTCTCT GCTGGGGAGAGGGTCACAATCACCTGCAGGGCCAGCCAGTC TGTGAGCAATCATGTGACATGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCCCCTAGGCTGCTGATCTACTCTGCTTCTAATAGGTACA CAGGCATCCCTGCCAGGTTCTCTGGCAGTGGGTATGGCACAG AGTTCACATTTACTATCAGCTCAGTGCAGTCAGAGGACTTTG CTGTGTATTTTTGCCAGCAGGACTACTCCTCTTTTGGCCAGG GCACCAAGCTGGAAATTAAGAGAGGAGGTGGGGGGTCTGGG GGAGGGGGCAGTGGAGGGGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGGT GGAGTCAGGACCAGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGGAGTCTGA GGCTGTCATGTGCTGTGTCAGGCTTCTCTGTGACCAATTATG GAGTGCACTGGGTGAGACAGCCTCCAGGAAAGGGCCTGGAG TGGCTGGGGGTGATCTGGGCAGGAGGGATCACAAACTATAA CAGCTCAGTGAAGGGAAGGCTGACAATCAGCAAAGATAATT CCAAGAACACAGTCTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCT GAAGATACAGCAGTGTACTACTGTGCAAGCAGAGGAGGACA CTATGGCTATGCCCTGGATTATTGGGGGCAGGGCACTCTGGT GACAGTGAGCAGTGCCAGCACAAAGGGCCCAGGGGGAGGA GGCAGTGGAGGGGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGAGTCAGG TGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGGAGGGGTGGTTCAGCCTGGC AGAAGCCTGAGACTGTCATGCAAGGCCTCAGGGTATACTTTC ACCAGATATACAATGCACTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCAA GGGACTGGAATGGATTGGCTACATTAACCCATCTAGGGGAT ATACAAATTATAATCAGAAATTCAAGGACAGATTTACAATCT CCAGGGACAACTCTAAGAATACTGCCTTTCTGCAGATGGACT CTCTGAGGCCTGAGGACACTGGAGTGTATTTCTGTGCCAGAT ACTATGATGACCATTATTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGCA CACCTGTGACAGTGTCCAGTGGAGGAGGAGGCTCAGGGGGA GGGGGCTCTGGAGGGGGAGGCTCTGATATCCAGATGACCCA GTCCCCAAGTAGCCTGAGTGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGA CCATCACCTGCTCTGCAAGCAGCTCTGTGTCCTACATGAACT GGTATCAGCAGACACCAGGCAAGGCCCCCAAGAGGTGGATT TATGACACCTCCAAGCTGGCTTCTGGGGTGCCAAGCAGATTC TCAGGATCTGGAAGTGGGACAGACTACACATTTACCATCAGT TCACTGCAGCCTGAGGACATTGCTACCTACTATTGTCAGCAG TGGTCCTCCAACCCCTTCACCTTTGGCCAGGGAACCAAGCTG CAGATCACCAGG
hu3F8V5 scFv-huOKT3 scFv (서열번호 42)	AAGATTGTGATGACCCAGACACCAGCCACACTGTCTGTCTCT GCTGGGGAGAGGGTCACAATCACCTGCAGGGCCAGCCAGTC TGTGAGCAATCATGTGACATGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCCCCTAGGCTGCTGATCTACTCTGCTTCTAATAGGTACA CAGGCATCCCTGCCAGGTTCTCTGGCAGTGGGTATGGCACAG AGTTCACATTTACTATCAGCTCAGTGCAGTCAGAGGACTTTG CTGTGTATTTTTGCCAGCAGGACTACTCCTCTTTTGGCCAGG GCACCAAGCTGGAAATTAAGAGAGGAGGTGGGGGGTCTGGG

[0202]

	GGAGGGGGCAGTGGAGGGGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGGT GGAGTCAGGACCAGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGGAGTCTGA GGCTGTCATGTGCTGTGTCAGGCTTCTCTGTGACCAATTATG GAGTGCACTGGGTGAGACAGCCTCCAGGAAAGGGCCTGGAG TGGCTGGGGGTGATCTGGGCAGGAGGGATCACAAACTATAA CAGCTCAGTGAAGGGAAGGCTGACAATCAGCAAAGATAATT CCAAGAACACAGTCTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCT GAAGATACAGCAGTGTACTACTGTGCAAGCAGAGGAGGACA CTATGGCTATGCCCTGGATTATTGGGGGCAGGGCACTCTGGT GACAGTGAGCAGTGGGGGAGGAGGCAGTGGAGGGGGAGGA TCTGGAGGAGGAGGGAGTCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGG AGGAGGGGTGGTTCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCAT GCAAGGCCTCAGGGTATACTTTCACCAGATATACAATGCACT GGGTGAGACAGGCCCCAGGCAAGGGACTGGAATGGATTGGC TACATTAACCCATCTAGGGGATATACAAATTATAATCAGAAA TTCAAGGACAGATTTACAATCTCCAGGGACAACTCTAAGAAT ACTGCCTTTCTGCAGATGGACTCTCTGAGGCCTGAGGACACT GGAGTGTATTTCTGTGCCAGATACTATGATGACCATTATTGT CTGGATTATTGGGGCCAGGGCACACCTGTGACAGTGTCCAGT GGAGGAGGAGGCTCAGGGGGAGGGGGCTCTGGAGGGGGAG GCTCTGATATCCAGATGACCCAGTCCCCAAGTAGCCTGAGTG CCTCAGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGCTCTGCAAGC AGCTCTGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGACACCAGGC AAGGCCCCCAAGAGGTGGATTTATGACACCTCCAAGCTGGC TTCTGGGGTGCCAAGCAGATTCTCAGGATCTGGAAGTGGGA CAGACTACACATTTACCATCAGTTCACTGCAGCCTGAGGACA TTGCTACCTACTATTGTCAGCAGTGGTCCTCCAACCCCTTCAC CTTTGGCCAGGGAACCAAGCTGCAGATCACCAGG
hu3F8V5 scFv-L2K07 scFv (서열번호 43)	AAGATTGTGATGACCCAGACACCAGCCACACTGTCTGTCTCT GCTGGGGAGAGGGTCACAATCACCTGCAGGGCCAGCCAGTC TGTGAGCAATCATGTGACATGGTACCAGCAGAAACCTGGCC AGGCCCCTAGGCTGCTGATCTACTCTGCTTCTAATAGGTACA CAGGCATCCCTGCCAGGTTCTCTGGCAGTGGGTATGGCACAG AGTTCACATTTACTATCAGCTCAGTGCAGTCAGAGGACTTTG CTGTGTATTTTTGCCAGCAGGACTACTCCTCTTTTGGCCAGG GCACCAAGCTGGAAATTAAGAGAGGAGGTGGGGGGTCTGGG GGAGGGGGCAGTGGAGGGGGAGGATCCCAGGTGCAGCTGGT GGAGTCAGGACCAGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGGAGTCTGA GGCTGTCATGTGCTGTGTCAGGCTTCTCTGTGACCAATTATG GAGTGCACTGGGTGAGACAGCCTCCAGGAAAGGGCCTGGAG TGGCTGGGGGTGATCTGGGCAGGAGGGATCACAAACTATAA CAGCTCAGTGAAGGGAAGGCTGACAATCAGCAAAGATAATT CCAAGAACACAGTCTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCT GAAGATACAGCAGTGTACTACTGTGCAAGCAGAGGAGGACA CTATGGCTATGCCCTGGATTATTGGGGGCAGGGCACTCTGGT GACAGTGAGCAGTGGGGGAGGAGGCAGTGACATTAAGCTGC AGCAAAGTGGAGCTGAGCTGGCTAGACCTGGAGCCAGTGTG AAGATGAGCTGTAAAACATCTGGGTATACTTTCACCAGATAC ACCATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGACTGGA ATGGATTGGGTACATCAACCCTTCCAGAGGCTACACAAACTA

[0203]

	CAACCAGAAATTCAAGGATAAGGCTACCCTCACTACAGACA AGTCATCCAGCACAGCCTACATGCAGCTGTCAAGTCTCACCT CAGAGGACTCAGCTGTGTACTACTGTGCAAGGTATTATGATG ACCACTATTGCCTGGACTATTGGGGTCAGGGCACCACACTGA CAGTGAGCTCAGTGGAGGGGGGCTCTGGAGGCAGTGGAGGA TCTGGAGGCTCTGGAGGGGTGGATGATATCCAGCTGACCCA GAGCCCTGCCATCATGTCAGCTTCTCCAGGGGAGAAGGTGA CAATGACCTGCAGAGCCAGCAGCTCTGTGTCTTACATGAACT GGTATCAGCAGAAGTCAGGTACTTCTCCCAAGAGATGGATA TATGATACTAGCAAGGTGGCCAGTGGAGTGCCCTACAGGTTC TCTGGAAGTGGGTCAGGCACAAGCTATAGCCTGACCATTTCC TCTATGGAAGCAGAGGATGCAGCTACCTACTACTGCCAGCA GTGGTCTTCCAACCCCCTGACTTTTGGAGCAGGAACCAAACT GGAGCTGAAA
14G2a scFv-huOKT3 scFv (서열번호 44)	GAGGTGCAGCTGCTGCAGAGTGGGCCAGAGCTGGAGAAGCC CGGGGCCTCTGTGATGATCTCTTGCAAGGCCTCAGGAAGCTC CTTCACAGGTTACAACATGAATTGGGTGCGCCAGAATATTGG TAAAAGCCTGGAATGGATTGGAGCCATTGACCCCTATTATGG GGGCACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGAAGAGCAACAC TGACTGTGGATAAGTCCTCTAGCACAGCCTACATGCACCTGA AATCTCTGACAAGTGAGGATAGTGCAGTGTACTATTGTGTCT CAGGGATGGAATATTGGGGCCAGGGAACCTCTGTGACAGTG AGCAGTGGAGGGGGAGGCTCAGGAGGGGGAGGGTCCGGGG GCGGAGGGAGTGATGTGGTGATGACACAGACCCCTCTGAGC CTGCCAGTGTCCCTGGGAGACCAGGCCTCTATCAGCTGCAGG TCCAGCCAGAGCCTGGTGCACAGGAATGGCAACACATACCT GCACTGGTATCTGCAGAAGCCTGGCCAGAGTCCAAAGCTGC TCATCCACAAGGTGTCCAACAGATTTTCAGGAGTGCCAGACA GGTTCTCCGGCTCAGGCTCTGGAACTGACTTTACACTCAAGA TCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGACTTGGGAGTGTATTTCTGTA GCCAGAGCACCCATGTGCCTCCTCTGACTTTTGGGGCCGGTA CTAAGCTGGAGCTGGGGGGAGGAGGCAGTGGAGGGGGAGG ATCTGGAGGAGGAGGGAGTCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTG GAGGAGGGGTGGTTCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCA TGCAAGGCCTCAGGGTATACTTTCACCAGATATACAATGCAC TGGGTGAGACAGGCCCCAGGCAAGGGACTGGAATGGATTGG CTACATTAACCCATCTAGGGGATATACAAATTATAATCAGAA ATTCAAGGACAGATTTACAATCTCCAGGGACAACTCTAAGA ATACTGCCTTTCTGCAGATGGACTCTCTGAGGCCTGAGGACA CTGGAGTGTATTTCTGTGCCAGATACTATGATGACCATTATT GTCTGGATTATTGGGGCCAGGGCACACCTGTGACAGTGTCCA GTGGAGGAGGAGGCTCAGGGGGAGGGGGCTCTGGAGGGGG AGGCTCTGATATCCAGATGACCCAGTCCCCAAGTAGCCTGAG TGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGCTCTGCAA GCAGCTCTGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGACACCAG GCAAGGCCCCCAAGAGGTGGATTTATGACACCTCCAAGCTG GCTTCTGGGGTGCCAAGCAGATTCTCAGGATCTGGAAGTGG GACAGACTACACATTTACCATCAGTTCACTGCAGCCTGAGGA

[0204]

	CATTGCTACCTACTATTGTCAGCAGTGGTCCTCCAACCCCTTC ACCTTTGGCCAGGGAACCAAGCTGCAGATCACCAGG
14G2a scFv-L2K07 scFv (서열번호 45)	GAGGTGCAGCTGCTGCAGAGTGGGCCAGAGCTGGAGAAGCC CGGGGCCTCTGTGATGATCTCTTGCAAGGCCTCAGGAAGCTC CTTCACAGGTTACAACATGAATTGGGTGCGCCAGAATATTGG TAAAAGCCTGGAATGGATTGGAGCCATTGACCCCTATTATGG GGGCACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGAAGAGCAACAC TGACTGTGGATAAGTCCTCTAGCACAGCCTACATGCACCTGA AATCTCTGACAAGTGAGGATAGTGCAGTGTACTATTGTGTCT CAGGGATGGAATATTGGGGCCAGGGAACCTCTGTGACAGTG AGCAGTGGAGGGGGAGGCTCAGGAGGGGGAGGGTCCGGGG GCGGAGGGAGTGATGTGGTGATGACACAGACCCCTCTGAGC CTGCCAGTGTCCCTGGGAGACCAGGCCTCTATCAGCTGCAGG TCCAGCCAGAGCCTGGTGCACAGGAATGGCAACACATACCT GCACTGGTATCTGCAGAAGCCTGGCCAGAGTCCAAAGCTGC TCATCCACAAGGTGTCCAACAGATTTTCAGGAGTGCCAGACA GGTTCTCCGGCTCAGGCTCTGGAACTGACTTTACACTCAAGA TCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGACTTGGGAGTGTATTTCTGTA GCCAGAGCACCCATGTGCCTCCTCTGACTTTTGGGGCCGGTA CTAAGCTGGAGCTGGGGGGAGGAGGCAGTGACATTAAGCTG CAGCAAAGTGGAGCTGAGCTGGCTAGACCTGGAGCCAGTGT GAAGATGAGCTGTAAAACATCTGGGTATACTTTCACCAGATA CACCATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGACTGG AATGGATTGGGTACATCAACCCTTCCAGAGGCTACACAAACT ACAACCAGAAATTCAAGGATAAGGCTACCCTCACTACAGAC AAGTCATCCAGCACAGCCTACATGCAGCTGTCAAGTCTCACC TCAGAGGACTCAGCTGTGTACTACTGTGCAAGGTATTATGAT GACCACTATTGCCTGGACTATTGGGGTCAGGGCACCACACTG ACAGTGAGCTCAGTGGAGGGGGGCTCTGGAGGCAGTGGAGG ATCTGGAGGCTCTGGAGGGGTGGATGATATCCAGCTGACCC AGAGCCCTGCCATCATGTCAGCTTCTCCAGGGGAGAAGGTG ACAATGACCTGCAGAGCCAGCAGCTCTGTGTCTTACATGAAC TGGTATCAGCAGAAGTCAGGTACTTCTCCCAAGAGATGGAT ATATGATACTAGCAAGGTGGCCAGTGGAGTGCCCTACAGGT TCTCTGGAAGTGGGTCAGGCACAAGCTATAGCCTGACCATTT CCTCTATGGAAGCAGAGGATGCAGCTACCTACTACTGCCAGC AGTGGTCTTCCAACCCCCTGACTTTTGGAGCAGGAACCAAAC TGGAGCTGAAA

[0205]

[0206] **표 8A**에 제시된 서열에 더하여, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 N-말단에 융합된 신호 펩타이드를 더 포함할 수 있다. 신호 펩타이드가 절단된 성숙한 버전의 단백질이 발현되는 것으로 이해된다.

[0207] 예를 들어, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 26과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 신호 펩타이드를 더 포함한다.

[0208] **신호 펩타이드 서열:**

[0209] MWWRLWWLLLLLLLLWPMVWAA

[0210] (서열번호 26)

[0211] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 9와 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0212] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 10과 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0213] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 11과 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0214] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 12와 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0215] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이중특이적 융합 단백질은 서열번호 13과 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0216] ***예시적인 rAAV 벡터***

[0217] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 **표 8B**에 열거된 서열 중 어느 하나에 상응하는 전이유전자 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41 내지 45 중 어느 하나와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41 내지 45 중 어느 하나와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41 내지 45 중 어느 하나와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41 내지 45 중 어느 하나와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41 내지 45 중 어느 하나와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41 내지 45 중 어느 하나와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41 내지 45 중 어느 하나와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전이유전자는 서열번호 41 내지 45 중 어느 하나와 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0218] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 41과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함한다.

[0219] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 42와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함한다.

[0220] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 43과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함한다.

[0221] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 44와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함한다.

[0222] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 45와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함한다.

[0223] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 조절 요소는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 5'에 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 조절 요소는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 3'에 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 조절 요소는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 3'에 있으며, 우드척 간염 바이러스 전사 후 조절 요소(WPRE)에서 유도된 것이다. 일부 실시형태에서, 조절 요소는 서열번호 64와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일하다. 일부 실시형태에서, WPRE는 서열번호 64와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, WPRE는 서열번호 64와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, WPRE는 서열번호 64와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, WPRE는 서열번호 64와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, WPRE는 서열번호 64와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, WPRE는 서열번호 64와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, WPRE는 서열번호 64와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, WPRE는 서열번호 64와 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0224] **WPRE 유래 조절 요소:**

TAACGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACT
GGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGC
TTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTT
CTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGT
GGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGA
CGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTT
TCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCAT
CGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGC
ACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTG
GCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCT
GCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGG
CCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTC
[0225] AGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCGG

[0226] (서열번호 64)

[0227] 일부 실시형태에서, 조절 요소는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 서열의 3'에 있으며, 변형된 RNA 안정성 조절 요소(MRE)이다. 일부 실시형태에서, 조절 요소는 서열번호 123과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 동일하다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 123과 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 123과 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 123과 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 123과 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 123과 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 123과 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 123과 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 123과 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0228] 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 124와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 124와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 124와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 124와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 124와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 124와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 124와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, MRE는 서열번호 124와 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0229] **변형된 RNA 안정성 조절 요소(MRE) 변이체 1**

CGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGT
ATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTT
AATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTC
CTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGC
CCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGC
AACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCC
GGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGC
CGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACT
GACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCT
GCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCT
ACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCT
GCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGA
[0230] CGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCGG

[0231] (서열번호 123)

[0232] **변형된 RNA 안정성 조절 요소(MRE) 변이체 2**

GAGCATCTTACCGCCATTTATACCCATATTTGTTCTGTTTTTCTTGAT
TTGGGTATACATTTAAATGTTAATAAAACAAAATGGTGGGGCAATC
ATTTACATTTTTAGGGATATGTAATTACTAGTTCAGGTGTATTGCCA
CAAGACAAACATGTTAAGAAACTTTCCCGTTATTTACGCTCTGTTC
CTGTTAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGA
TATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTGTGTGGATATGCTGCTTT
ATAGCCTCTGTATCTAGCTATTGCTTCCCGTACGGCTTTCGTTTTCT
CCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTTAGAGGAGTTGTGG
CCCGTTGTCCGTCAACGTGGCGTGGTGTGCTCTGTGTTTGCTGACGC
AACCCCCACTGGCTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAACTCCTTTCT
GGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCGATCGCCACGGCAGAACTCATCG
CCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTAGGTTGCTGGGCAC
[0233] TGATAATTCCGTGGTGTTGTC

[0234] (서열번호 124)

[0235] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 **표 9**에 열거된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다.

표 9 - 예시적인 AAV2 벡터 서열

작제물	뉴클레오타이드 서열
AAV2-hu3F8V5-스페이서-링커-huOKT3 (서열번호 53)	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGG GCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACT AGGGGTTCCTTCTAGACAACTTTGTATAGAAAAGTTGCTCGACAT TGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTA GTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTA AATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGAC GTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTT CCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTT GGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGA CGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACA TGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG TCATCGCTATTACCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCA CTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATT TATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGG GGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGG CGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGC GCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCG GCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGC GCTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCC CGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGG CGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAA TGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGG CTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGC GTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCTCCGCGC TGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGT GCGCTCCGCAGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGC CCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTG CGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGTC GGTCGGGCTGCAACCCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGA GCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTACGGGGCGTGGCG CGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGT GCCGGGCGGGGCGGGGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGG GAGGGGCGCGGCGGCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCG CGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGG GCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGAAATCT GGGAGGCGCCGCCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCG GTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGT GCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGC TGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGC GGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGC TAACCATGTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAAC GTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTGCAA GTTTGTACAAAAAAGCAGGCTGCCACCATGTGGTGGAGACTGTG GTGGCTGCTGCTGCTCCTGCTGCTGCTGTGGCCTATGGTGTGGGC TGCCAAGATTGTGATGACCCAGACACCAGCCACACTGTCTGTCTC TGCTGGGGAGAGGGTCACAATCACCTGCAGGGCCAGCCAGTCTG

[0236]

[0237]

	TGAGCAATCATGTGACATGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCC CCTAGGCTGCTGATCTACTCTGCTTCTAATAGGTACACAGGCATC CCTGCCAGGTTCTCTGGCAGTGGGTATGGCACAGAGTTCACATTT ACTATCAGCTCAGTGCAGTCAGAGGACTTTGCTGTGTATTTTTGC CAGCAGGACTACTCCTCTTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAAT TAAGAGAGGAGGTGGGGGGTCTGGGGGAGGGGGCAGTGGAGGG GGAGGATCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGACCAGGAGTGGT GCAGCCTGGCAGGAGTCTGAGGCTGTCATGTGCTGTGTCAGGCTT CTCTGTGACCAATTATGGAGTGCACTGGGTGAGACAGCCTCCAG GAAAGGGCCTGGAGTGGCTGGGGGTGATCTGGGCAGGAGGGAT CACAAACTATAACAGCTCAGTGAAGGGAAGGCTGACAATCAGCA AAGATAATTCCAAGAACACAGTCTATCTGCAGATGAACAGCCTG AGGGCTGAAGATACAGCAGTGTACTACTGTGCAAGCAGAGGAGG ACACTATGGCTATGCCCTGGATTATTGGGGGCAGGGCACTCTGGT GACAGTGAGCAGTGCCAGCACAAAGGGCCCAGGGGGAGGAGGC AGTGGAGGGGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGAGTCAGGTGCAGC TGGTGCAGTCTGGAGGAGGGGTGGTTCAGCCTGGCAGAAGCCTG AGACTGTCATGCAAGGCCTCAGGGTATACTTTCACCAGATATAC AATGCACTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCAAGGGACTGGAATGG ATTGGCTACATTAACCCATCTAGGGGATATACAAATTATAATCAG AAATTCAAGGACAGATTTACAATCTCCAGGGACAACTCTAAGAA TACTGCCTTTCTGCAGATGGACTCTCTGAGGCCTGAGGACACTGG AGTGTATTTCTGTGCCAGATACTATGATGACCATTATTGTCTGGA TTATTGGGGCCAGGGCACACCTGTGACAGTGTCCAGTGGAGGAG GAGGCTCAGGGGGAGGGGGCTCTGGAGGGGGAGGCTCTGATATC CAGATGACCCAGTCCCCAAGTAGCCTGAGTGCCTCAGTGGGAGA CAGAGTGACCATCACCTGCTCTGCAAGCAGCTCTGTGTCCTACAT GAACTGGTATCAGCAGACACCAGGCAAGGCCCCCAAGAGGTGG ATTTATGACACCTCCAAGCTGGCTTCTGGGGTGCCAAGCAGATTC TCAGGATCTGGAAGTGGGACAGACTACACATTTACCATCAGTTC ACTGCAGCCTGAGGACATTGCTACCTACTATTGTCAGCAGTGGTC CTCCAACCCCTTCACCTTTGGCCAGGGAACCAAGCTGCAGATCAC CAGGTGAGAATTCCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTG AAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTAT GTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCG TATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCT CTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTG TGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCC ACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTA TTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGA CAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGG GGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCT GGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCA ATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGC CTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCC TTTGGGCCGCCTCCCCGCATCGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGT GGGAATTCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAG TTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACC CTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAA ATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGT

	GGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGAGAATA GCAGGCATGCTGGGGAGGGCCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGT TGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGC GACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCA GTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCG GTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATACGT CAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCG GCGGGGGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAG CGCCTTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCC ACGTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCT TTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAA CTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAG ACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGT GGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACTCTATCTCGGGC TATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGTCTATTGGT TAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAAC AAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACTCTCAGTACAATC TGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAAC ACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGC TTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGA GGTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTC GTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTT TCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC CCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTC ATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAG GAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTT TTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTG GTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGG TTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTT TCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCT GCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGC AACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGT ACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTA AGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGC GGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAA CCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATC GTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGT GACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACT ATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAT AGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCT CGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCG GTGAGCGTGGAAGCCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGAT GGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCA GGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTG CCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCAT ATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGA TCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTT AACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAG ATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCT GCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTG

[0238]

	CCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTC AGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTA GTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCT CGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAA GTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATA AGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCC AGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCG TGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCG GACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCA CGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCT GTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGC TCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGG CCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT
AAV2- hu3F8V5-링커- huOKT3 (서열번호 54)	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGG GCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACT AGGGGTTCCTTCTAGACAACTTTGTATAGAAAAGTTGCTCGACAT TGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTA GTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTA AATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGAC GTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTT CCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTT GGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGA CGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACA TGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG TCATCGCTATTACCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCA CTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATT TATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGG GGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGG CGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGC GCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCG GCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGC GCTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCC CGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGG CGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAA TGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGG CTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGC GTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCTCCGCGC TGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGT GCGCTCCGCAGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGC CCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTG CGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGTC GGTCGGGCTGCAACCCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGA GCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTACGGGGCGTGGCG CGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGT GCCGGGCGGGGCGGGGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGG GAGGGGCGCGGCGGCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCG CGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGG GCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGAAATCT GGGAGGCGCCGCCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCG

[0239]

	GTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGT GCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGC TGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGC GGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGC TAACCATGTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAAC GTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTGCAA GTTTGTACAAAAAAGCAGGCTGCCACCATGTGGTGGAGACTGTG GTGGCTGCTGCTGCTCCTGCTGCTGCTGTGGCCTATGGTGTGGGC TGCCAAGATTGTGATGACCCAGACACCAGCCACACTGTCTGTCTC TGCTGGGGAGAGGGTCACAATCACCTGCAGGGCCAGCCAGTCTG TGAGCAATCATGTGACATGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCC CCTAGGCTGCTGATCTACTCTGCTTCTAATAGGTACACAGGCATC CCTGCCAGGTTCTCTGGCAGTGGGTATGGCACAGAGTTCACATTT ACTATCAGCTCAGTGCAGTCAGAGGACTTTGCTGTGTATTTTTGC CAGCAGGACTACTCCTCTTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAAT TAAGAGAGGAGGTGGGGGGTCTGGGGGAGGGGGCAGTGGAGGG GGAGGATCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGACCAGGAGTGGT GCAGCCTGGCAGGAGTCTGAGGCTGTCATGTGCTGTGTCAGGCTT CTCTGTGACCAATTATGGAGTGCACTGGGTGAGACAGCCTCCAG GAAAGGGCCTGGAGTGGCTGGGGGTGATCTGGGCAGGAGGGAT CACAAACTATAACAGCTCAGTGAAGGGAAGGCTGACAATCAGCA AAGATAATTCCAAGAACACAGTCTATCTGCAGATGAACAGCCTG AGGGCTGAAGATACAGCAGTGTACTACTGTGCAAGCAGAGGAGG ACACTATGGCTATGCCCTGGATTATTGGGGGCAGGGCACTCTGGT GACAGTGAGCAGTGGGGGAGGAGGCAGTGGAGGGGGAGGATCT GGAGGAGGAGGGAGTCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGGAG GGGTGGTTCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCATGCAAGGCC TCAGGGTATACTTTCACCAGATATACAATGCACTGGGTGAGACA GGCCCCAGGCAAGGGACTGGAATGGATTGGCTACATTAACCCAT CTAGGGGATATACAAATTATAATCAGAAATTCAAGGACAGATTT ACAATCTCCAGGGACAACTCTAAGAATACTGCCTTTCTGCAGATG GACTCTCTGAGGCCTGAGGACACTGGAGTGTATTTCTGTGCCAGA TACTATGATGACCATTATTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGCACA CCTGTGACAGTGTCCAGTGGAGGAGGAGGCTCAGGGGGAGGGG GCTCTGGAGGGGGAGGCTCTGATATCCAGATGACCCAGTCCCCA AGTAGCCTGAGTGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTG CTCTGCAAGCAGCTCTGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGAC ACCAGGCAAGGCCCCCAAGAGGTGGATTTATGACACCTCCAAGC TGGCTTCTGGGGTGCCAAGCAGATTCTCAGGATCTGGAAGTGGG ACAGACTACACATTTACCATCAGTTCACTGCAGCCTGAGGACATT GCTACCTACTATTGTCAGCAGTGGTCCTCCAACCCCTTCACCTTT GGCCAGGGAACCAAGCTGCAGATCACCAGGTGAGAATTCCGATA ATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTC TTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAAT GCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCC TCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGG CCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGAC GCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTT TCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTC ATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTG

[0240]

[0241]

	GGCACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTT CCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACG TCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTT CCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCC TTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGC ATCGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGGAATTCCTAGAGCTCG CTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGT TTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCC CACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCT GAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACA GCAAGGGGGAGGATTGGGAAGAGAATAGCAGGCATGCTGGGGA GGGCCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCT GCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCC GACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCG CGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACG CATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATACGTCAAAGCAACCATAGT ACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGGGTGGTGGTT ACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCTTAGCGCCCGC TCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCGCCGGCTTTC CCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTA GTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAACTTGATTTGGGTGATG GTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTT TGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAA CTGGAACAACACTCAACTCTATCTCGGGCTATTCTTTTGATTTAT AAGGGATTTTGCCGATTTCGGTCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGA TTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTA CAATTTTATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCAT AGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCC TGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTG ACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCACCGTCATCA CCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTT ATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGG CACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTT CTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTG ATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTC AACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCT TCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGC TGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATC TCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGT TTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTA TTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCAT ACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGA AAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTG CTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGA CAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAAC ATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCT GAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTG TAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTA CTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGC GGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGG

	CTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGAAGCC GCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGT ATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA ACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGC ATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTG ATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCC TTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTT CCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTT GAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAA AACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTA CCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATA CCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTC AAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTG TTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGG TTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGG CTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGA CCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGC GCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAG CGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGG GGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTC TGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGC CTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCC TTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT
AAV2-hu3F8V5-링커-CD3 (서열번호 55)	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGG GCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACT AGGGGTTCCTTCTAGACAACTTTGTATAGAAAAGTTGCTCGACAT TGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTA GTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTA AATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGAC GTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTT CCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTT GGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGA CGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACA TGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG TCATCGCTATTACCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCA CTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATT TATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGG GGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGG CGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGC GCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCG GCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGC GCTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCC CGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGG CGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAA TGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGG CTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGC GTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCTCCGCGC TGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGT GCGCTCCGCAGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGC

[0242]

[0243]

	CCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTG
	CGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGTC
	GGTCGGGCTGCAACCCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGA
	GCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTACGGGGCGTGGCG
	CGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGT
	GCCGGGCGGGGCGGGGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGG
	GAGGGGCGCGGCGGCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCG
	CGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGG
	GCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGAAATCT
	GGGAGGCGCCGCCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCG
	GTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGT
	GCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGC
	TGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGC
	GGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGC
	TAACCATGTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAAC
	GTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTGCAA
	GTTTGTACAAAAAAGCAGGCTGCCACCATGTGGTGGAGACTGTG
	GTGGCTGCTGCTGCTCCTGCTGCTGCTGTGGCCTATGGTGTGGGC
	TGCCAAGATTGTGATGACCCAGACACCAGCCACACTGTCTGTCTC
	TGCTGGGGAGAGGGTCACAATCACCTGCAGGGCCAGCCAGTCTG
	TGAGCAATCATGTGACATGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCC
	CCTAGGCTGCTGATCTACTCTGCTTCTAATAGGTACACAGGCATC
	CCTGCCAGGTTCTCTGGCAGTGGGTATGGCACAGAGTTCACATTT
	ACTATCAGCTCAGTGCAGTCAGAGGACTTTGCTGTGTATTTTTGC
	CAGCAGGACTACTCCTCTTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAAT
	TAAGAGAGGAGGTGGGGGGTCTGGGGGAGGGGGCAGTGGAGGG
	GGAGGATCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGACCAGGAGTGGT
	GCAGCCTGGCAGGAGTCTGAGGCTGTCATGTGCTGTGTCAGGCTT
	CTCTGTGACCAATTATGGAGTGCACTGGGTGAGACAGCCTCCAG
	GAAAGGGCCTGGAGTGGCTGGGGGTGATCTGGGCAGGAGGGAT
	CACAAACTATAACAGCTCAGTGAAGGGAAGGCTGACAATCAGCA
	AAGATAATTCCAAGAACACAGTCTATCTGCAGATGAACAGCCTG
	AGGGCTGAAGATACAGCAGTGTACTACTGTGCAAGCAGAGGAGG
	ACACTATGGCTATGCCCTGGATTATTGGGGGCAGGGCACTCTGGT
	GACAGTGAGCAGTGGGGGAGGAGGCAGTGACATTAAGCTGCAG
	CAAAGTGGAGCTGAGCTGGCTAGACCTGGAGCCAGTGTGAAGAT
	GAGCTGTAAAACATCTGGGTATACTTTCACCAGATACACCATGC
	ACTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGACTGGAATGGATTGG
	GTACATCAACCCTTCCAGAGGCTACACAAACTACAACCAGAAAT
	TCAAGGATAAGGCTACCCTCACTACAGACAAGTCATCCAGCACA
	GCCTACATGCAGCTGTCAAGTCTCACCTCAGAGGACTCAGCTGTG
	TACTACTGTGCAAGGTATTATGATGACCACTATTGCCTGGACTAT
	TGGGGTCAGGGCACCACACTGACAGTGAGCTCAGTGGAGGGGGG
	CTCTGGAGGCAGTGGAGGATCTGGAGGCTCTGGAGGGGTGGATG
	ATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTGCCATCATGTCAGCTTCTCCAG
	GGGAGAAGGTGACAATGACCTGCAGAGCCAGCAGCTCTGTGTCT
	TACATGAACTGGTATCAGCAGAAGTCAGGTACTTCTCCCAAGAG
	ATGGATATATGATACTAGCAAGGTGGCCAGTGGAGTGCCCTACA
	GGTTCTCTGGAAGTGGGTCAGGCACAAGCTATAGCCTGACCATTT
	CCTCTATGGAAGCAGAGGATGCAGCTACCTACTACTGCCAGCAG

[0244]

	TGGTCTTCCAACCCCCTGACTTTTGGAGCAGGAACCAAACTGGA GCTGAAATGAGAATTCCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTT GTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGC TATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTC CCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTG TCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTG GTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATT GCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCC CTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCT GGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTTG TCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCC ACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCC CTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTG CGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATC TCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCGGACCCAGCTTTCTTGTACA AAGTGGGAATTCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTT CTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTT GACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGA GGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGG GGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGAG AATAGCAGGCATGCTGGGGAGGGCCGCAGGAACCCCTAGTGATG GAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCC GGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGC CTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGA TGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCAT ACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAG CGCGGCGGGGGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTG CCAGCGCCTTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCT CGCCACGTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCT CCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAA AAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTG ATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAA TAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACTCTATCTC GGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGTCTAT TGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTT AACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACTCTCAGTACA ATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCA ACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCC GCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCA GAGGTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCC TCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGG TTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAA CCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCT CATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAA GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCT TTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCT GGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGG GTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGT TTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTT CTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGA

	GCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGA GTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAG TAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACT GCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCT AACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGA TCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGC GTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAA CTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTA ATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCG CTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGC CGGTGAGCGTGGAAGCCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAG ATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTC AGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGT GCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCA TATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGG ATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCT TAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAA GATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTG CTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTT GCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTT CAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGT AGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACC TCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATA AGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGAT AAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCC CAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGC GTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGC GGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGC ACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCC TGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATG CTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCG GCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT
AAV2-14G2a-링커-huOKT3 (서열번호 56)	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGG GCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACT AGGGGTTCCTTCTAGACAACTTTGTATAGAAAAGTTGCTCGACAT TGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTA GTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTA AATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGAC GTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTT CCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTT GGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGA CGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACA TGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG TCATCGCTATTACCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCA CTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATT TATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGG GGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGG CGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGC

[0245]

[0246]

	GCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCG
	GCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGC
	GCTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCC
	CGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGG
	CGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAA
	TGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGG
	CTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGC
	GTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCTCCGCGC
	TGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGT
	GCGCTCCGCAGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGC
	CCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTG
	CGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGTC
	GGTCGGGCTGCAACCCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGA
	GCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTACGGGGCGTGGCG
	CGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGT
	GCCGGGCGGGGCGGGGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGG
	GAGGGGCGCGGCGGCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCG
	CGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGG
	GCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGAAATCT
	GGGAGGCGCCGCCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCG
	GTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGT
	GCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGC
	TGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGC
	GGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGC
	TAACCATGTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAAC
	GTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTGCAA
	GTTTGTACAAAAAAGCAGGCTGCCACCATGTGGTGGAGGCTGTG
	GTGGCTGCTGCTCCTGCTGCTGCTGTTGTGGCCAATGGTGTGGGC
	TGCAGAGGTGCAGCTGCTGCAGAGTGGGCCAGAGCTGGAGAAGC
	CCGGGGCCTCTGTGATGATCTCTTGCAAGGCCTCAGGAAGCTCCT
	TCACAGGTTACAACATGAATTGGGTGCGCCAGAATATTGGTAAA
	AGCCTGGAATGGATTGGAGCCATTGACCCCTATTATGGGGGCAC
	TTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGAAGAGCAACACTGACTGTGG
	ATAAGTCCTCTAGCACAGCCTACATGCACCTGAAATCTCTGACAA
	GTGAGGATAGTGCAGTGTACTATTGTGTCTCAGGGATGGAATATT
	GGGGCCAGGGAACCTCTGTGACAGTGAGCAGTGGAGGGGGAGG
	CTCAGGAGGGGGAGGGTCCGGGGGCGGAGGGAGTGATGTGGTG
	ATGACACAGACCCCTCTGAGCCTGCCAGTGTCCCTGGGAGACCA
	GGCCTCTATCAGCTGCAGGTCCAGCCAGAGCCTGGTGCACAGGA
	ATGGCAACACATACCTGCACTGGTATCTGCAGAAGCCTGGCCAG
	AGTCCAAAGCTGCTCATCCACAAGGTGTCCAACAGATTTTCAGG
	AGTGCCAGACAGGTTCTCCGGCTCAGGCTCTGGAACTGACTTTAC
	ACTCAAGATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGACTTGGGAGTGTATT
	TCTGTAGCCAGAGCACCCATGTGCCTCCTCTGACTTTTGGGGCCG
	GTACTAAGCTGGAGCTGGGGGGAGGAGGCAGTGGAGGGGGAGG
	ATCTGGAGGAGGAGGGAGTCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAG
	GAGGGGTGGTTCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCATGCAAG
	GCCTCAGGGTATACTTTCACCAGATATACAATGCACTGGGTGAG
	ACAGGCCCCAGGCAAGGGACTGGAATGGATTGGCTACATTAACC
	CATCTAGGGGATATACAAATTATAATCAGAAATTCAAGGACAGA

[0247]

	TTTACAATCTCCAGGGACAACTCTAAGAATACTGCCTTTCTGCAG ATGGACTCTCTGAGGCCTGAGGACACTGGAGTGTATTTCTGTGCC AGATACTATGATGACCATTATTGTCTGGATTATTGGGGCCAGGGC ACACCTGTGACAGTGTCCAGTGGAGGAGGAGGCTCAGGGGGAG GGGGCTCTGGAGGGGGAGGCTCTGATATCCAGATGACCCAGTCC CCAAGTAGCCTGAGTGCCTCAGTGGGAGACAGAGTGACCATCAC CTGCTCTGCAAGCAGCTCTGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCA GACACCAGGCAAGGCCCCCAAGAGGTGGATTTATGACACCTCCA AGCTGGCTTCTGGGGTGCCAAGCAGATTCTCAGGATCTGGAAGT GGGACAGACTACACATTTACCATCAGTTCACTGCAGCCTGAGGA CATTGCTACCTACTATTGTCAGCAGTGGTCCTCCAACCCCTTCAC CTTTGGCCAGGGAACCAAGCTGCAGATCACCAGGTGAGAATTCC GATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGT ATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTT TAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTT CTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTG TGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCT GACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTC CTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAA CTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTG TTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCC TTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGG ACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTT CCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTT CGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCC CCGCATCGGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGGAATTCCTAGAG CTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTG TTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCA CTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATT GTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAG GACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGAGAATAGCAGGCATGCTG GGGAGGGCCGCAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCT CTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTC GCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCG AGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCT TACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATACGTCAAAGCAACCA TAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGGGTGGT GGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCTTAGCGC CCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCGCCGG CTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCG ATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAACTTGATTTGGG TGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCG CCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTC CAAACTGGAACAACACTCAACTCTATCTCGGGCTATTCTTTTGAT TTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGTCTATTGGTTAAAAAATGAG CTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACG TTTACAATTTTATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCC GCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGC GCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGC TGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCACCGTC

	ATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTAT TTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAG GTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTAT TTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAAC CCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGT ATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTT GCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAG ATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTG GATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGA ACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGC GGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCC GCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCA CAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGC AGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTT CTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCA CAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGG AGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATG CCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGA ACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGA GGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGG CTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGA AGCCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTC CCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGG ATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATT AAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAG ATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAG ATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTT TCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATC TTCTTGAGATCCTTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACA AAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGA GCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCA GATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCA CTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAAT CCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTAC CGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGT CGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGA ACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGA AAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCG GTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTC CAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCC ACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGC GGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTC CTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGT
AAV2-14G2a-링커-CD3 (서열번호 57)	CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGG GCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGT GAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACT AGGGGTTCCTTCTAGACAACTTTGTATAGAAAAGTTGCTCGACAT TGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTA GTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTA AATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGAC

[0248]

[0249]

	GTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTT CCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTT GGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGA CGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACA TGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAG TCATCGCTATTACCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCA CTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTTTGTATTTATT TATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGG GGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGG CGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGC GCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCG GCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGC GCTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCC CGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGG CGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAA TGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGG CTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGC GTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCTCCGCGC TGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGT GCGCTCCGCAGTGTGCGCGAGGGGAGCGCGGCCGGGGGCGGTGC CCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTGCGTG CGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGTC GGTCGGGCTGCAACCCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGA GCACGGCCCGGCTTCGGGTGCGGGGCTCCGTACGGGGCGTGGCG CGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGT GCCGGGCGGGGCGGGGCCGCCTCGGGCCGGGGAGGGCTCGGGG GAGGGGCGCGGCGGCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGCG CGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGG GCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGAAATCT GGGAGGCGCCGCCGCACCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCG GTGCGGCGCCCGGCAGGAAGGAAATGGGCGGGGAGGGCCTTCGT GCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCCTTCTCCCTCTCCAGCCTCGGGGC TGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGC GGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGC TAACCATGTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAAC GTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTGCAA GTTTGTACAAAAAAGCAGGCTGCCACCATGTGGTGGAGGCTGTG GTGGCTGCTGCTCCTGCTGCTGCTGTTGTGGCCAATGGTGTGGGC TGCAGAGGTGCAGCTGCTGCAGAGTGGGCCAGAGCTGGAGAAGC CCGGGGCCTCTGTGATGATCTCTTGCAAGGCCTCAGGAAGCTCCT TCACAGGTTACAACATGAATTGGGTGCGCCAGAATATTGGTAAA AGCCTGGAATGGATTGGAGCCATTGACCCCTATTATGGGGGCAC TTCCTACAATCAGAAGTTCAAAGGAAGAGCAACACTGACTGTGG ATAAGTCCTCTAGCACAGCCTACATGCACCTGAAATCTCTGACAA GTGAGGATAGTGCAGTGTACTATTGTGTCTCAGGGATGGAATATT GGGGCCAGGGAACCTCTGTGACAGTGAGCAGTGGAGGGGAGG CTCAGGAGGGGGAGGGTCCGGGGGCGGAGGGAGTGATGTGGTG ATGACACAGACCCCTCTGAGCCTGCCAGTGTCCCTGGGAGACCA GGCCTCTATCAGCTGCAGGTCCAGCCAGAGCCTGGTGCACAGGA ATGGCAACACATACCTGCACTGGTATCTGCAGAAGCCTGGCCAG

[0250]

	AGTCCAAAGCTGCTCATCCACAAGGTGTCCAACAGATTTTCAGG
	AGTGCCAGACAGGTTCTCCGGCTCAGGCTCTGGAACTGACTTTAC
	ACTCAAGATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGACTTGGGAGTGTATT
	TCTGTAGCCAGAGCACCCATGTGCCTCCTCTGACTTTTGGGGCCG
	GTACTAAGCTGGAGCTGGGGGGAGGAGGCAGTGACATTAAGCTG
	CAGCAAAGTGGAGCTGAGCTGGCTAGACCTGGAGCCAGTGTGAA
	GATGAGCTGTAAAACATCTGGGTATACTTTCACCAGATACACCAT
	GCACTGGGTGAAGCAGAGGCCAGGACAGGGACTGGAATGGATT
	GGGTACATCAACCCTTCCAGAGGCTACACAAACTACAACCAGAA
	ATTCAAGGATAAGGCTACCCTCACTACAGACAAGTCATCCAGCA
	CAGCCTACATGCAGCTGTCAAGTCTCACCTCAGAGGACTCAGCT
	GTGTACTACTGTGCAAGGTATTATGATGACCACTATTGCCTGGAC
	TATTGGGGTCAGGGCACCACACTGACAGTGAGCTCAGTGGAGGG
	GGGCTCTGGAGGCAGTGGAGGATCTGGAGGCTCTGGAGGGGTGG
	ATGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTGCCATCATGTCAGCTTCTC
	CAGGGGAGAAGGTGACAATGACCTGCAGAGCCAGCAGCTCTGTG
	TCTTACATGAACTGGTATCAGCAGAAGTCAGGTACTTCTCCCAAG
	AGATGGATATATGATACTAGCAAGGTGGCCAGTGGAGTGCCCTA
	CAGGTTCTCTGGAAGTGGGTCAGGCACAAGCTATAGCCTGACCA
	TTTCCTCTATGGAAGCAGAGGATGCAGCTACCTACTACTGCCAGC
	AGTGGTCTTCCAACCCCCTGACTTTTGGAGCAGGAACCAAACTG
	GAGCTGAAATGAGAATTCCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAA
	TTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTAC
	GCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCT
	TCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGC
	TGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCG
	TGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCA
	TTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCT
	CCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTG
	CTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTT
	GTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGC
	CACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGC
	CCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCT
	GCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGAT
	CTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCGGACCCAGCTTTCTTGTAC
	AAAGTGGGAATTCCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCT
	TCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCT
	TGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATG
	AGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGG
	GGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGA
	GAATAGCAGGCATGCTGGGGAGGGCCGCAGGAACCCCTAGTGAT
	GGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGC
	CGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGG
	CCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGGGCGCCTG
	ATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGC
	ATACGTCAAAGCAACCATAGTACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTA
	AGCGCGGCGGGGGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACT
	TGCCAGCGCCTTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTT
	CTCGCCACGTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGG
	CTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCC

	AAAAAACTTGATTTGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCC CTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTT AATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACTCTATC TCGGGCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTCGGTCT ATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAAT TTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTTATGGTGCACTCTCAGT ACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCC GCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGC ATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGT GTCAGAGGTTTTCACCGTCATCACCGAAACGCGCGAGACGAAAG GGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATA ATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGC GGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATC CGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGA AAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATT CCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAA CGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGA GTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGA GAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAA AGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCA AGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGT TGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGA CAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAC ACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGA GCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCT TGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACG AGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGC AAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAA TTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGG AGCCGGTGAGCGTGGAAGCCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGC CAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGG AGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGAT AGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTA CTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAA AGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATC CCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAA AAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATC TGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTG TTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGG CTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCC GTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATA CCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGA TAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGG ATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAG CCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACA GCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAG GCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGC GCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGT CCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGA

[0251]

	TGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATG T

[0252]

[0253] 일부 실시형태에서, rAAV 벡터는 서열번호 53 내지 57 중 어느 하나와 적어도 약 85% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 벡터는 서열번호 53 내지 57 중 어느 하나와 적어도 약 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 벡터는 서열번호 53 내지 57 중 어느 하나와 적어도 약 95% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 벡터는 서열번호 53 내지 57 중 어느 하나와 적어도 약 96% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 벡터는 서열번호 53 내지 57 중 어느 하나와 적어도 약 97% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 벡터는 서열번호 53 내지 57 중 어느 하나와 적어도 약 98% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 벡터는 서열번호 53 내지 57 중 어느 하나와 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, rAAV 벡터는 서열번호 53 내지 57 중 어느 하나와 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0254] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 53과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다.

[0255] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 54와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다.

[0256] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 55와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다.

[0257] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 56과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다.

[0258] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 서열번호 57과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다.

[0259] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV 벡터는 모체 등가물과 비교하여 감소된 CpG 디뉴클레오타이드 및/또는 증가된 CpG 디뉴클레오타이드의 메틸화를 포함하는 하나 이상의 구성요소(예컨대, 조절 요소, 전이유전자)를 포함한다. 일부 실시형태에서, CpG 디뉴클레오타이드는 모체 등가물과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 초과로 감소되어 있다. 일부 실시형태에서, CpG 디뉴클레오타이드는 약 5% 내지 약 90%, 약 10% 내지 약 80%, 약 15% 내지 약 75%, 약 20% 내지 약 70%, 약 25% 내지 약 65%, 또는 약 30% 내지 약 60% 범위로 감소되어 있다. 일부 실시형태에서, CpG 디뉴클레오타이드의 메틸화는 모체 등가물과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 95% 초과로 증가되어 있다. 일부 실시형태에서, CpG 디뉴클레오타이드의 메틸화는 약 5% 내지 약 90%, 약 10% 내지 약 80%, 약 15% 내지 약 75%, 약 20% 내지 약 70%, 약 25% 내지 약 65%, 또는 약 30% 내지 약 60% 범위로 증가되어 있다.

[0260] **2. 재조합 아데노연관바이러스(AAV) 벡터 생산**

[0261] 재조합 AAV 입자는 임의의 표준 방법을 통해 생산할 수 있다(예를 들어, 국제공개 WO 2001/083692호; Masic *et al.* 2014. *Molecular Therapy*, 22(11):1900-1909; Carter, 1992, Current Opinions in Biotechnology, 1533-539; Muzyczka, 1992, Curr. Topics in Microbial, and Immunol., 158:97-129); Ratschin et al., Mol. Cell. Biol. 4:2072 (1984); Hermonat et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6466 (1984); Tratschin et al., Mol. Cell. Biol. 5:3251 (1985); McLaughlin et al, J. Virol, 62: 1963 (1988); Lebkowski et al, Mol. Cell. Biol, 7:349 (1988); Samulski et al, J. Virol., 63:3822-3828 (1989); 미국 특허 제5,173,414호; 국제공개 WO 95/13365호; 미국 특허 제5,658.776호; 국제공개 WO 95/13392호; 국제공개 WO 96/17947호; 국제출원 PCT/US98/18600호; 국제공개 WO 97/09441호(국제출원 PCT/US96/14423호); 국제공개 WO 97/08298호(국제출원 PCT/US96/13872호); 국제공개 WO 97/21825호(국제출원 PCT/US96/20777호); 국제공개 WO 97/06243호(국제출원 PCT/FR96/01064호); 국제공개 WO 99/11764호; Perrin et al. Vaccine 13: 1244-1250 (1995); Paul et al. Human Gene Therapy 4:609-615 (1993); Clark et al. Gene Therapy 3: 1124-1132 (1996); 미국 특허 제5,786,211호; 미국 특허 제5,871,982호; 및 미국 특허 제6,258,595호 참조, 그 전체가 본원에 원용되어 포함됨). 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 rAAV 벡터를 에스케리키아 콜리(*Escherichia coli*)로 형질전환시켜 DNA 생산의 규모를 확장시키고, 임의의 표준 방법(예를 들어, Maxi-Prep K, Thermo Scientific)을 사용하여 정제하고, 제한효소 소화 또는 시퀀싱을 통해 검증할 수 있다. 이어서, 정제된 rAAV 벡터를 표준 방법(예컨대, 인산칼슘 트랜스펙션, 리포좀, 폴리에틸렌이민, 전기천공 등)을 사용하여 AAV *rep* 유전자와 AAV *cap* 유전자를 포함하는 플라스미드 및 AAV 헬퍼 플라스미드와 조합으로 적절한 패키징 세포주(예컨대, HEK293, HeLa, Sf9, PerC.6, MRC-5, WI-38, Vera 또는 FRhL-2 세포)에 트랜스펙션시킬 수 있다. AAV *rep* 유전자와 AAV *cap* 유전자는 임의의 AAV 혈청형에서 유래할 수 있고, 비제한적으로 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAVrh.74, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12 및 AAV13을 포함하는 재조합 AAV 벡터 ITR과 동일하거나 상이할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본원에 기재된 재조합 AAV는, 각각, AAV2와 AAV9에서 유도된 AAV *rep* 유전자와 AAV *cap* 유전자를 포함한다. AAV 헬퍼 플라스미드는 임의의 AAV 혈청형에서 유래할 수 있으며, 비제한적으로, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAVrh.74, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12 및 AAV13을 포함하는 재조합 AAV 벡터 ITR과 동일하거나 상이할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본원에 기재된 재조합 AAV는 AAV2에서 유도된 헬퍼 유전자를 갖는 플라스미드를 포함한다.

[0262] 일부 실시형태에서, AAV rep 유전자와 AAV cap 유전자는 AAVrh.74에서 유래한 것이다. 일부 실시형태에서, *rep* 유전자와 *cap* 유전자는 서열번호 125의 핵산 서열과 적어도 85%(예컨대, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, *rep* 유전자와 *cap* 유전자는 서열번호 125의 핵산 서열과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, *rep* 유전자와 *cap* 유전자는 서열번호 125의 핵산 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, *rep* 유전자와 *cap* 유전자는 서열번호 125의 핵산 서열과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, *rep* 유전자와 *cap* 유전자는 서열번호 125의 핵산 서열과 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, *rep* 유전자와 *cap* 유전자는 서열번호 125의 핵산 서열과 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, *rep* 유전자와 *cap* 유전자는 서열번호 125의 핵산 서열과 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, *rep* 유전자와 *cap* 유전자는 서열번호 125의 핵산 서열을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

표 10. Rep 서열과 Cap 서열

설명	서열번호	서열
Rep 및 Cap	125	CGGGCCCCCCCTCGAGGTCGACGGTATCGGGGGAGCTCG CAGGGTCTCCATTTTGAAGCGGGAGGTTTGAACGCGCAG CCGCCATGCCGGGGTTTTACGAGATTGTGATTAAGGTCC CCAGCGACCTTGACGAGCATCTGCCCGGCATTTCTGACA GCTTTGTGAACTGGGTGGCCGAGAAGGAATGGGAGTTG CCGCCAGATTCTGACATGGATCTGAATCTGATTGAGCAG GCACCCCTGACCGTGGCCGAGAAGCTGCAGCGCGACTTT CTGACGGAATGGCGCCGTGTGAGTAAGGCCCCGGAGGC TCTTTTCTTTGTGCAATTTGAGAAGGGAGAGAGCTACTT CCACATGCACGTGCTCGTGGAAACCACCGGGGTGAAATC CATGGTTTTGGGACGTTTCCTGAGTCAGATTCGCGAAAA ACTGATTCAGAGAATTTACCGCGGGATCGAGCCGACTTT GCCAAACTGGTTCGCGGTCACAAAGACCAGAAATGGCG CCGGAGGCGGGAACAAGGTGGTGGATGAGTGCTACATC CCCAATTACTTGCTCCCCAAAACCCAGCCTGAGCTCCAG TGGGCGTGGACTAATATGGAACAGTATTTAAGCGCCTGT TTGAATCTCACGGAGCGTAAACGGTTGGTGGCGCAGCAT CTGACGCACGTGTCGCAGACGCAGGAGCAGAACAAAGA GAATCAGAATCCCAATTCTGATGCGCCGGTGATCAGATC AAAAACTTCAGCCAGGTACATGGAGCTGGTCGGGTGGCT CGTGGACAAGGGGATTACCTCGGAGAAGCAGTGGATCC AGGTGAGTAATTGACAAAGCCAAACACCACCATTTGCCG AGCACTTTAGAGTTTACAGGTTTGTTTCTCTTGACCCTCA AAACAAACCTGTGAGGCATAGGGAGTATTGCTATCCCTT AAGAATTCACCCCCAGTGTGCCCATCAAAACCTCCCAGG CTGAGTCTGCACAGTTGAAGGAGGAAGGATAGGAATGG GAGGGTCGATGGGTGAAAGCATGATTCTCTTAACCAGTC CAGATTATCAGGTAATCCCTTCAACAACCACCACCCACT CCCTGGGCAATCCAGCTGGAGTTTACAGACAGACTTAGC TGGCTATAGCACCACCGTGCTACTCTCTGTTCTTCCTGGT TGCTCAAATGCCCTAGAAAAGTGGAACAGGTGAGCATC AACTCACAGGGCTCTATGCTGGCTGCTGCTGCGAGGGAT GTTATGCTATAGTACCAGGGGCCACCATTCCATAGGCAC TTCCTGTGTTTAATACCCTATATGCTTTACTTCATCTCAT CTTCCTCCATATCCTGAGAGGTGGTTCTATTCTTCTCCCC ATTTTACGGATGAAAAAACCGAGACACAGAAAGGTGAA ATAGCTTAAGATAAATGGTGCCTTGCAGCCTTAGACTCT GGTGGCCTCTAGTTAATGTGGGAAATTAAGGGTGAGGG GATTGGCAGCTGATGGAGGGTGCAGGGTGCCAGACAGA GGCGTTTAGCTCTGATCCCTTAGCAATAGAGAGTCCTTG TAGGCACTTGGTCAGGCGAGTGATGCGATGAAAGCTGTG TTTAAGAAAGATTATGCTTTCTGCTGATTTCATACCCCCA ACACCCAAGCTCTGAGGCCCCTCCTCACAGGTCCTTGCA GGGCTGGCCAAAATAAAGCAGCTTCACTCCGTTGTGCTG

[0263]

		CTTTCCAGCTAATGTGTCTGTTTGGCAGAAGTTTCCCTCA AAGGCAGATCAGTGAAATAAGCAGAAGCCTCGACCCCC CTTTGTCAGCCAGAGCTGCTGAAGTGCCTTGCCCCAGGG TCACTTTGTGTGAGGGGATTAGAGAGCACTGGGGCTGCC AAGAAACACTGCCGTTTCTACAGATTAGCAGGACGCTGG CTTGTGGCCTTCTAGCGAGGCTCAGAGCTGCGGTGGCCC TAGTCTGCATGGGCTAAAGACAAGCTCCATCTCCTGTCC TTGTTCCCTCCTTCCTGGGCACAGCCGCCCTGCTTCTTGG TTCTCTCTGTTGGTTCCTGTCCGCACGGTAGTTAGGCTGG CAGCGTGTGTAGGATTTGGCTTAGAAGATTGACAACATT GCCTTTGAGCCCTTCTTTGCTACTCCTCCCTCTCCCCTCC CATCAGACTCCTCTCTGGAGTCTGCTCTGCGAGGCCTCT GCTCTGTGGTATCCCAGCAGCCTTCTCAGCCTTGACTTCC AGAAGGGGGCTGTGCAGTGTCCGGGGTGTGCAGGCCCC AGACACGGGGTAGGCTCATGGAGATCCAAGTGCTGATCT AGTGTCAAGGCTGGCCTGGAGACTGGGCTGGGTTGGTGT CTGCCTGCTGTGGTCATGTGCCCTCCCTTGGGCCTGTATC CTCTCTCCAGACTTGCTGCAGGGAGAGGTGGCAGATGTC AGCCTAGTTCTGGCCTCTCAGAGCAGCATGGCAGCTCCC TTTCACTCAGGCCCAGGCTGGGCCCTCCTGCTGGCTGAC CCCTGGGGAGAGGGTGCTCCAGAGCTCCCCAAGGAACA GCTTCCCGAAGCAGCCAGGCCAGCCCAGAGGGGCTGTG GCCAATCCTGAAGCTTTATGTTCCTGCTGACATTTTTTCT AAGTTTTCTCTTGCTTTCCTCTTAAATGCCAATCTGGAGA GTCTCCGTTAGGAGAAATGGACCCCAGCCAGGAAGAAG AGTTGAGTTGTATTTAAAACACGAGCTCCCCCTAAAGCA TCCTTCTTTAGCTTCTAAGGAGAGGCAGAGACTGACAGG CAGGACTCAGCAGGAAAAGGTACCCCCCTGACCTGCTCA GTCAGGCCCTAGGCCCAGCTCCACCCAGCCTGTGGCCCC CAGAGTTTCGGTAAAGAGTTCCCTGGGCCTTAAGGAACC TTGAGAGAGCATTTGAGGGGTGCCACCACAAACTTGGCA GAAAAAACCCTCCCCCTCCAAGTCCAGTCCTAGAGAAGG AGCTGGCAACCTTGCCTTGCTTTGTAAGCAAAAGCCTCT TAGGGCTTGAGCTCAGATGTAGTGTTTGAGCTGTGGCTG GTGCCCTGCCCCATCAGGGAGCCAATGGTAGACATCCTA TGGGCATCTTTGTTTTCCGTAAGAGCAGGCTGTCTGGGG ATGGGCCAGAGGAAGAGGCGACCTGGAGTCAACCAAGA GGAGGCCTTAACCAAGCCTTAACCACAGAGGTTAACCA AGCCTTGAAAGCGCTTCCCCCTGAGCAGGCAGGAAGCA CTGAGTCCACATGGTTGCCTCGCTGTTTCATTTCCTTACA CTCAATTCTCTCAGTCTTTAAATGATCACTTGGCCTTGAA GTTACGGATATTTGGGGTCTGAACTGAAGTTGAAGAAAA GAGGAAATGATTTAAGCTTTGTTTAAGATTAGGGGCCAG GTGCGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACCTTGGGAG CCTGAGGCGGGTGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCCAG ACCAGCCTGGCCAACATAGCAAAACCCAGTCTCTACTAA AAATAACAATAAAAAAATTAGCCAGGTGTGGTGACACA TGCCTGTAATCCCAGTTACTCAGGAGGCTGAGGCAGAAT TGCTTGAACTTGAGAGGTGGAGGTTGTAGTGAGCCAAGA CCGCACCACTGCACTCCAGCCTGGCGACAGAGCCAGACT

[0264]

[0265]

		CCGTCTCAAAAACAACAACAAAAAAGATTAGAAGAAGC CCATTACTGCCTTCTGGCCACCCACTCGCACAGACACCA AAACTGCAGCCCACACCTCGCCATCCTCGTGCTCTGCCC TGGGACACCCCAGGCACAGTGTGTCCTTCGTTTTCTGTA AGGGTGGGCTGGGAGCAGGGACGGACAGGGCCTGTGGG CACCTCTCATGGTCACTTCCTTCTTGCTCACAGGAGGACC AGGCCTCATACATCTCCTTCAATGCGGCCTCCAACTCGC GGTCCCAAATCAAGGCTGCCTTGGACAATGCGGGAAAG ATTATGAGCCTGACTAAAACCGCCCCCGACTACCTGGTG GGCCAGCAGCCCCGTGGAGGACATTTCCAGCAATCGGATT TATAAAATTTTGGAACTAAACGGGTACGATCCCCAATAT GCGGCTTCCGTCTTTCTGGGATGGGCCACGAAAAAGTTC GGCAAGAGGAACACCATCTGGCTGTTTGGGCCTGCAACT ACCGGGAAGACCAACATCGCGGAGGCCATAGCCCACAC TGTGCCCTTCTACGGGTGCGTAAACTGGACCAATGAGAA CTTTCCCTTCAACGACTGTGTCGACAAGATGGTGATCTG GTGGGAGGAGGGGAAGATGACCGCCAAGGTCGTGGAGT CGGCCAAAGCCATTCTCGGAGGAAGCAAGGTGCGCGTG GACCAGAAATGCAAGTCCTCGGCCCAGATAGACCCGAC TCCCGTGATCGTCACCTCCAACACCAACATGTGCGCCGT GATTGACGGGAACTCAACGACCTTCGAACACCAGCAGC CGTTGCAAGACCGGATGTTCAAATTTGAACTCACCCGCC GTCTGGATCATGACTTTGGGAAGGTCACCAAGCAGGAA GTCAAAGACTTTTTCCGGTGGGCAAAGGATCACGTGGTT GAGGTGGAGCATGAATTCTACGTCAAAAAGGGTGGAGC CAAGAAAAGACCCGCCCCCAGTGACGCAGATATAAGTG AGCCCAAACGGGTGCGCGAGTCAGTTGCGCAGCCATCG ACGTCAGACGCGGAAGCTTCGATCAACTACGCAGACAG GTACCAAAACAAATGTTCTCGTCACGTGGGCATGAATCT GATGCTGTTTCCCTGCAGACAATGCGAGAGAATGAATCA GAATTCAAATATCTGCTTCACTCACGGACAGAAAGACTG TTTAGAGTGCTTTCCCGTGTCAGAATCTCAACCCGTTTCT GTCGTCAAAAAGGCGTATCAGAAACTGTGCTACATTCAT CATATCATGGGAAAGGTGCCAGACGCTTGCACTGCCTGC GATCTGGTCAATGTGGATTTGGATGACTGCATCTTTGAA CAATAAATGATTTAAATCAGGTATGGCTGCCGATGGTTA TCTTCCAGATTGGCTCGAGGACAACCTCTCTGAGGGCAT TCGCGAGTGGTGGGACCTGAAACCTGGAGCCCCGAAAC CCAAAGCCAACCAGCAAAAGCAGGACAACGGCCGGGGT CTGGTGCTTCCTGGCTACAAGTACCTCGGACCCTTCAAC GGACTCGACAAGGGGGAGCCCGTCAACGCGGCGGACGC AGCGGCCCTCGAGCACGACAAGGCCTACGACCAGCAGC TCCAAGCGGGTGACAATCCGTACCTGCGGTATAATCACG CCGACGCCGAGTTTCAGGAGCGTCTGCAAGAAGATACGT CTTTTGGGGGCAACCTCGGGCGCGCAGTCTTCCAGGCCA AAAAGCGGGTTCTCGAACCTCTGGGCCTGGTTGAATCGC CGGTTAAGACGGCTCCTGGAAAGAAGAGACCGGTAGAG CCATCACCCCAGCGCTCTCCAGACTCCTCTACGGGCATC GGCAAGAAAGGCCAGCAGCCCGCAAAAAAGAGACTCAA TTTTGGGCAGACTGGCGACTCAGAGTCAGTCCCCGACCC

[0266]

		TCAACCAATCGGAGAACCACCAGCAGGCCCCTCTGGTCT GGGATCTGGTACAATGGCTGCAGGCGGTGGCGCTCCAAT GGCAGACAATAACGAAGGCGCCGACGGAGTGGGTAGTT CCTCAGGAAATTGGCATTGCGATTCCACATGGCTGGGCG ACAGAGTCATCACCACCAGCACCCGCACCTGGGCCCTGC CCACCTACAACAACCACCTCTACAAGCAAATCTCCAACG GGACCTCGGGAGGAAGCACCAACGACAACACCTACTTC GGCTACAGCACCCCCTGGGGGTATTTTGACTTCAACAGA TTCCACTGCCACTTTTCACCACGTGACTGGCAGCGACTC ATCAACAACAACTGGGGATTCCGGCCCAAGAGGCTCAA CTTCAAGCTCTTCAACATCCAAGTCAAGGAGGTCACGCA GAATGAAGGCACCAAGACCATCGCCAATAACCTTACCA GCACGATTCAGGTCTTTACGGACTCGGAATACCAGCTCC CGTACGTGCTCGGCTCGGCGCACCAGGGCTGCCTGCCTC CGTTCCCGGCGGACGTCTTCATGATTCCTCAGTACGGGT ACCTGACTCTGAACAATGGCAGTCAGGCTGTGGGCCGGT CGTCCTTCTACTGCCTGGAGTACTTTCCTTCTCAAATGCT GAGAACGGGCAACAACTTTGAATTCAGCTACAACTTCGA GGACGTGCCCTTCCACAGCAGCTACGCGCACAGCCAGA GCCTGGACCGGCTGATGAACCCTCTCATCGACCAGTACT TGTACTACCTGTCCCGGACTCAAAGCACGGGCGGTACTG CAGGAACTCAGCAGTTGCTATTTTCTCAGGCCGGGCCTA ACAACATGTCGGCTCAGGCCAAGAACTGGCTACCCGGTC CCTGCTACCGGCAGCAACGCGTCTCCACGACACTGTCGC AGAACAACAACAGCAACTTTGCCTGGACGGGTGCCACC AAGTATCATCTGAATGGCAGAGACTCTCTGGTGAATCCT GGCGTTGCCATGGCTACCCACAAGGACGACGAAGAGCG ATTTTTTCCATCCAGCGGAGTCTTAATGTTTGGGAAACA GGGAGCTGGAAAAGACAACGTGGACTATAGCAGCGTGA TGCTAACCAGCGAGGAAGAAATAAAGACCACCAACCCA GTGGCCACAGAACAGTACGGCGTGGTGGCCGATAACCT GCAACAGCAAAACGCCGCTCCTATTGTAGGGGCCGTCAA TAGTCAAGGAGCCTTACCTGGCATGGTGTGGCAGAACCG GGACGTGTACCTGCAGGGTCCCATCTGGGCCAAGATTCC TCATACGGACGGCAACTTTCATCCCTCGCCGCTGATGGG AGGCTTTGGACTGAAGCATCCGCCTCCTCAGATCCTGAT TAAAAACACACCTGTTCCCGCGGATCCTCCGACCACCTT CAATCAGGCCAAGCTGGCTTCTTTCATCACGCAGTACAG TACCGGCCAGGTCAGCGTGGAGATCGAGTGGGAGCTGC AGAAGGAGAACAGCAAACGCTGGAACCCAGAGATTCAG TACACTTCCAACTACTACAAATCTACAAATGTGGACTTT GCTGTCAATACTGAGGGTACTTATTCCGAGCCTCGCCCC ATTGGCACCCGTTACCTCACCCGTAATCTGTAATTACAT GTTAATCAATAAACCGGTTAATTCGTTTCAGTTGAACTTT GGTCTCCTGTCCTTCTTATCTTATCGGTTACCATAGAAAC TGGTTACTTATTAACTGCTTGGTGCGCTTCGCGATAAAA GACTTACGTCATCGGGTTACCCCTAGTGATGGAGCGGCC GCTTTCAGTTGAACTTTGGTCTCTGCGTATTTCTTTCTTAT CTAGTTTCCATGCTCTAGAGGTCCTGTATTAGAGGTCAC GTGAGTGTTTTGCGACATTTTGCGACACCATGTGGTCAC

[0267]

		GCTGGGTATTTAAGCCCGAGTGAGCACGCAGGGTCTCCA TTTTGAAGCGGGAGGTTTGAACGCGCAGCCGCCAAGCCG AATTCTGCAGATAATTCCGTGTATTCTATAGTGTCACCTA AATCGTATGTGTATGATACATAAGGTTATGTATTAATTG TAGCCGCGTTCTAACGACAATATGTACAAGCCTAATTGT GTAGCATCTGGCTTACTGAAGCAGACCCTATCATCTCTC TCGTAAACTGCCGTCAGAGTCGGTTTGGTTGGACGAACC TTCTGAGTTTCTGGTAACGCCGTCCCGCACCCGGAAATG GTCAGCGAACCAATCAGCAGGGTCATCGCTAGCCAGATC CTCTACGCCGGACGCATCGTGGCCGGCATCACCGGCGCC ACAGGTGCGGTTGCTGGCGCCTATATCGCCGACATCACC GATGGGGAAGATCGGGCTCGCCACTTCGGGCTCATGAGC GCTTGTTTCGGCGTGGGTATGGTGGCAGGCCGCCCTTAG AAAAACTCATCGAGCATCAAATGAAACTGCAATTTATTC ATATCAGGATTATCAATACCATATTTTTGAAAAAGCCGT TTCTGTAATGAAGGAGAAAACTCACCGAGGCAGTTCCAT AGGATGGCAAGATCCTGGTATCGGTCTGCGATTCCGACT CGTCCAACATCAATACAACCTATTAATTTCCCCTCGTCA AAAATAAGGTTATCAAGTGAGAAATCACCATGAGTGAC GACTGAATCCGGTGAGAATGGCAAAAGCTTATGCATTTC TTTCCAGACTTGTTCAACAGGCCAGCCATTACGCTCGTC ATCAAAATCACTCGCATCAACCAAACCGTTATTCATTCG TGATTGCGCCTGAGCGAGACGAAATACGCGATCGCTGTT AAAAGGACAATTACAAACAGGAATCGAATGCAACCGGC GCAGGAACACTGCCAGCGCATCAACAATATTTTCACCTG AATCAGGATATTCTTCTAATACCTGGAATGCTGTTTTCCC GGGGATCGCAGTGGTGAGTAACCATGCATCATCAGGAG TACGGATAAAATGCTTGATGGTCGGAAGAGGCATAAATT CCGTCAGCCAGTTTAGTCTGACCATCTCATCTGTAACATC ATTGGCAACGCTACCTTTGCCATGTTTCAGAAACAACTC TGGCGCATCGGGCTTCCCATACAATCGATAGATTGTCGC ACCTGATTGCCCGACATTATCGCGAGCCCATTTATACCC ATATAAATCAGCATCCATGTTGGAATTTAATCGCGGCCT CGAGCAAGACGTTTCCCGTTGAATATGGCTCATAACACC CCTTGTATTACTGTTTATGTAAGCAGACAGTTTTATTGTT CATGATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTAACATCAGA GATTTTGAGACACAACGTGGTTTGCAGGAGTCAGGCAAC TATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTG CCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTT ACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTA ATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCT CATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTG AGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTG AGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACA AAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGAT CAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTC AGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAG CCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCG CCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTG CTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACT

		CAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGC TGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCG AACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCT ATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGG ACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAG CGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTT TATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTC GATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCT TTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCC CCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGA GCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAG CGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATAC GCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAAT GCAGCTGTGGAATGTGTGTCAGTTAGGGTGTGGAAAGTC CCCAGGCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGC ATCTCAATTAGTCAGCAACCAGGTGTGGAAAGTCCCCAG GCTCCCCAGCAGGCAGAAGTATGCAAAGCATGCATCTCA ATTAGTCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCA TCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCC CCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAG GCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGA GGCTTTTTTGGAGGAACAAACAGCTTTTTTGGGGTGAAC ATATTGACTGAATTGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGG GAAGAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAA GTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCACCACACCCGCCG CGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTCCCATTCGCCAT TCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGG GCCTCTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGT GCTGCAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCC CAGTCACGACGTTGTAAAACGACGGCCAGTGAGCGCGC GTAATACGACTCACTATAGGGCGAATTGGGTAC

[0268]

[0269] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 재조합 AAV를 패키징 세포에서 수확하고, 염화세슘 초원심분리 구배 또는 컬럼 크로마토그래피와 같은 당업계의 표준 방법(예컨대, Clark et al, Hum. Gene Ther., 10(6): 1031-1039 (1999); Schenpp and Clark, Methods Mol. Med., 69 427-443 (2002); 미국 특허 제6,566,118호 및 국제공개 WO 98/09657호 참조, 그 전체가 본원에 원용되어 포함됨)을 통해 정제한다.

[0270] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV는 **표 9**에 열거된 뉴클레오타이드 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0271] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 rAAV는 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAV-rh8, AAV-rh10, AAV-rh20, AAV-rh39, AAV-rh74, AAV-rhM4-1, AAV-hu37, AAV-Anc80, AAV-Anc80L65, AAV-7m8, AAV-PHP-B, AAV-PHP-EB, AAV-2.5, AAV-2tYF, AAV-3B, AAV-LK03, AAV-HSC1, AAV-HSC2, AAV-HSC3, AAV-HSC4, AAV-HSC5, AAV-HSC6, AAV-HSC7, AAV-HSC8, AAV-HSC9, AAV-HSC10, AAV-HSC11, AAV-HSC12, AAV-HSC13, AAV-HSC14, AAV-HSC15, AAV-TT, AAV-DJ/8, AAV-Myo, AAV-NP40, AAV-NP59, AAV-NP22, AAV-NP66, 또는 AAV-HSC16, 또는 이의 유도체로 이루어지는 군에서 선택된다. 일부 실시형태에서, rAAV는 AAV2 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, rAAV는 AAV8 또는 이의 유도체이다. 일부 실시형태에서, rAAV는 AAV-rh74, 또는 이의 유도체이다.

[0272] **3. 약학적 조성물**

[0273] 본원에 기재된 재조합 AAV 벡터는 약학적 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 약학적 조성물은 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터와, 약학적으로 허용 가능한 담체, 및 선택적으로, 다른 약제, 약학적 작용제, 안정화제, 완충제, 담체, 아쥬반트, 희석제 등을 포함한다. "약학적으로 허용 가능한"이란, 독성이거나 달리 비바람직한 것이 아닌 물질을 의미하며, 즉, 물질이 임의의 바람직하지 않은 생물학적 효과를 야기하지 않으면서 대상에게 투여될 수 있음을 의미한다.

[0274] 일부 실시형태에서, 약학적 조성물은, 선택적으로 약학적 조성물이 전달되는 대상의 혈액과 등장성인 멸균 수성 및 비수성 주사액을 포함한다. 약학적 조성물은 항산화제, 완충제, 정균제 및 용질을 함유할 수 있으며, 이는 조성물을 투여가 의도된 대상의 혈액과 등장성으로 만든다. 수성 및 비수성 멸균 현탁액, 용액 및 에멀젼은 현탁화제와 증점제를 포함할 수 있다. 비수성 용매의 예에는, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 및 에틸 올레에이트와 같은 주사용 유기 에스테르가 있다. 수성 담체에는, 물, 알코올성/

수성 용액, 에멀젼 또는 현탁액, 예컨대 식염수와 완충 매질이 포함된다. 일부 실시형태에서, 약학적 조성물은 약학적으로 허용 가능한 비히클을 포함하고, 염화소듐 용액, 덱스트로오스 링거액, 덱스트로오스와 염화소듐, 젖산 링거액, 또는 불휘발유를 포함할 수 있다. 예를 들어 항미생물제, 항산화제, 킬레이트제 및 불활성 가스 등과 같은 보존제와 다른 첨가제가 또한 존재할 수 있다.

[0275] 일부 실시형태에서, 약학적 조성물은 단위/용량 또는 다회 용량 용기, 예를 들어 밀봉된 앰플 및 바이알에 제공될 수 있으며, 사용 직전에 멸균 액체 담체, 예를 들어 식염수 또는 주사용수만 첨가하면 되는 동결 건조된(동결건조된) 상태로 보관될 수 있다.

[0276] 일부 실시형태에서, 본원에 개시된 약학적 조성물은 정맥내, 근육내, 척수강내, 또는 뇌실내 투여용으로 제형화될 수 있다.

[0277] **4. 치료 방법**

[0278] 본 개시내용의 재조합 AAV(rAAV) 벡터 또는 이를 포함하는 약학적 조성물은, 비제한적으로, 정맥내, 복강내 및 근육내 투여를 포함하는 임의의 전달 방식을 통해 이를 필요로 하는 대상에게 투여될 수 있다.

[0279] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터 또는 이를 포함하는 약학적 조성물은 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 또는 그 이상의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 다회 용량으로 투여되는 경우, 용량은 이를 필요로 하는 대상에게 동시에 또는 간격을 두고 투여될 수 있다.

[0280] 본 출원은 전이의 위험을 감소시키고, 전이를 예방하고 치료하는 방법으로서, 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 또는 이의 약학적 제형을 투여하는 방식으로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0281] 다른 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터 또는 이를 포함하는 약학적 조성물은 단회 정맥내 용량 또는 분할된 정맥내 용량으로 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 정맥내 전달을 위한 용량은 1×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 2×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 3×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 4×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 5×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 6×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 7×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 8×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 9×10^{10} 내지 1×10^{13} vg/kg, 1×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 2×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 3×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 4×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 5×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 6×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 7×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 8×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 9×10^{11} 내지 1×10^{13} vg/kg, 1×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 2×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 3×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 4×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 5×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 6×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 7×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 8×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 9×10^{12} 내지 1×10^{13} vg/kg, 1×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 2×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 3×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 4×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 5×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 6×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 7×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 8×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 9×10^{10} 내지 1×10^{12} vg/kg, 1×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 2×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 3×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 4×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 5×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 6×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 7×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 8×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 9×10^{11} 내지 1×10^{12} vg/kg, 1×10^{10} 내지 1×10^{11} vg/kg, 2×10^{10} 내지 1×10^{11} vg/kg, 3×10^{10} 내지 1×10^{11} vg/kg, 4×10^{10} 내지 1×10^{11} vg/kg, 5×10^{10} 내지 1×10^{11} vg/kg, 6×10^{10} 내지 1×10^{11} vg/kg, 7×10^{10} 내지 1×10^{11} vg/kg, 8×10^{10} 내지 1×10^{11} vg/kg, 또는 9×10^{10} 내지 1×10^{11}(킬로그램 (kg)당 바이러스 게놈(vg)(단위: vg/kg))일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 또는 이를 포함하는 약학적 조성물은 1×10^{11} vg/kg의 단회 정맥내 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 또는 이를 포함하는 약학적 조성물은 3×10^{11} vg/kg의 단회 정맥내 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 또는 이를 포함하는 약학적 조성물은 1×10^{12} vg/kg의 단회 정맥내 용량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 또는 이를 포함하는 약학적 조성물은 3×10^{12} vg/kg의 단회 정맥내 용량으로 투여된다. 일부 실시형

태에서, 본 개시내용의 재조합 AAV 벡터는 또는 이를 포함하는 약학적 조성물은 5 X 10^{12} vg/kg의 단회 정맥내 용량으로 투여된다.

[0282] 일부 실시형태에서, 본 출원은 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 암은 신경모세포종, 흑색종, 망막모세포종, 유잉 육종, 소세포 폐 종양, 신경교종, 골육종, 또는 연조직 육종이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 암은 신경모세포종이다.

[0283] ***전이의 위험을 감소시키는 방법***

[0284] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위. 일부 실시형태에서, 환자는 암으로 진단받지 않았다. 일부 실시형태에서, 환자는 암 치료를 받지 않았다.

[0285] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0286] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0287] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0288] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0289] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한

다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0290] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0291] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0292] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0293] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0294] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합

부위.

[0295] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0296] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 9와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0297] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 10과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0298] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 11과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0299] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 12와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0300] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 13과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0301] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 41과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0302] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 42와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0303] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 43과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0304] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 44과 적어도 85%(예컨

대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0305] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 45와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0306] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 53과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0307] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 54과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0308] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 55과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0309] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 56과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0310] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이의 위험을 감소시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 57과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0311] ***전이를 예방하는 방법***

[0312] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위. 일부 실시형태에서, 환자는 암으로 진단받지 않았다. 일부 실시형태에서, 환자는 암 치료를 받지 않았다.

[0313] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0314] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하

는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0315] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0316] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0317] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0318] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0319] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0320] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서

열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0321] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0322] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0323] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0324] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 9와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0325] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 10과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0326] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 11과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0327] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 12와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0328] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 13과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0329] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 41과 적어도 85%(예컨대, 적어

도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0330] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 42와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0331] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 43과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0332] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 44와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0333] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 45와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0334] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 53과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0335] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 54와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0336] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 55와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0337] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 56과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0338] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 57과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0339] ***전이를 치료하는 방법***

[0340] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선

택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0341] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0342] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0343] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0344] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0345] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0346] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%)

서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0347] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0348] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0349] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0350] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0351] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0352] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 9와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0353] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 10과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0354] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 11과 적어도 85%(예컨대, 적어

도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0355] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 12와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0356] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 13과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0357] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 41과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0358] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 42와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0359] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 43과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0360] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 44와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0361] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 45와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0362] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 53과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0363] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 54와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0364] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 55와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0365] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 56과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방

법을 제공한다.

[0366] 일부 실시형태에서, 본 출원은 전이를 치료하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 57과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0367] ***순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법***

[0368] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0369] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0370] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0371] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0372] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0373] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0374] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0375] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0376] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0377] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0378] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어

도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0379] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0380] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 9와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0381] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 10과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0382] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 11과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0383] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 12와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0384] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 13과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0385] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 41과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0386] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 42와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0387] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 43과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0388] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 44와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0389] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 45와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0390] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 53과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0391] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 54와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0392] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 55와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0393] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 56과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0394] 일부 실시형태에서, 본 출원은 순환 종양 세포의 T세포 매개 사멸을 촉진시키는 방법으로서, 환자에게 서열번호 57과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0395] ***종양이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법***

[0396] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0397] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0398] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으

로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0399] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0400] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0401] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0402] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0403] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%,

적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0404] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0405] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0406] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0407] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0408] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 9와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0409] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 10과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0410] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 11과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0411] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 12와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0412] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 13과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0413] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 41과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0414] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 42와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0415] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 43과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0416] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 44와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0417] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 45와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0418] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 53과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0419] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 54와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0420] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 55와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포

함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0421] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 56과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0422] 일부 실시형태에서, 본 출원은 종양(예컨대, GD2+ 종양)이 발생할 소인이 있는 환자에서 암을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 57과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0423] ***암의 재발을 예방하는 방법***

[0424] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0425] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 서열번호 70, 서열번호 71 및 서열번호 72에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0426] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 91, 서열번호 92, 서열번호 93, 서열번호 94, 서열번호 95 및 서열번호 96에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0427] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 79, 서열번호 80, 서열번호 81, 서열번호 76, 서열번호 77 및 서열번호 78에 상응하는 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 서열을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 85, 서열번호 86, 서열번호 87, 서열번호 88, 서열번호 89 및 서열번호 90에 상응하는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열에서 선택되는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0428] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL

도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0429] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 2 및 서열번호 1에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0430] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 18 및 서열번호 19에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위를 포함한다.

[0431] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 각각, 서열번호 4 및 서열번호 3에 상응하는 VL 도메인 서열 및 VH 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VL 도메인 및 VH 도메인을 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25에 상응하는 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 각각, 서열번호 14 및 서열번호 15에 상응하는 VH 도메인 서열 및 VL 도메인 서열과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하는 CD3 결합 부위.

[0432] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0433] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 5와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%,

적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0434] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 90과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 20의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 17과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0435] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 하기를 갖는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다: (i) 서열번호 7과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 GD2 결합 부위; (ii) 서열번호 25의 서열을 포함하는 링커 펩타이드; 및 (iii) 서열번호 16과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 scFv를 포함하는 CD3 결합 부위.

[0436] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 9와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0437] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 10과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0438] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 11과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0439] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 12와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0440] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 13과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 rAAV 벡터, 또는 이의 약학적 제형의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0441] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 41과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0442] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 42와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0443] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 43과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0444] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 44와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0445] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 45와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 갖는 전이유전자 서열을 포함하는 rAAV 벡터의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0446] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 53과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0447] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 54와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0448] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 55와 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0449] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 56과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0450] 일부 실시형태에서, 본 출원은 암(예컨대, GD2+ 암)의 관해 상태에 있는 환자에서 암의 재발을 예방하는 방법으로서, 환자에게 서열번호 57과 적어도 85%(예컨대, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%) 서열 동일성을 포함하는 rAAV의 유효량을 투여하는 단계로 이루어지는 방법을 제공한다.

[0451] ***병용 치료***

[0452] 본 개시내용의 또 다른 양태에서, rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형은 원발성 종양의 치료와 동시에 투여된다.

[0453] 본 개시내용의 일부 실시형태에서, rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형은 원발성 종양의 수술적 절제, 방사선 요법, 화학요법 또는 면역요법과 동시에 투여된다.

[0454] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형은 CTLA-4 저해제, PD-1 저해제 및 PD-L1 저해제에서 선택되는 체크포인트 저해제와 조합으로 투여된다.

[0455] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형은 이필리무맙과 트레멜리무맙(tremelimumab)에서 선택되는 CTLA-4 저해제와 조합으로 투여된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 또는 이의 약학적 제형은 이필리무맙과 조합으로 투여된다.

[0456] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 또는 이의 약학적 제형은 펨브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙(cemiplimab), 도스탈리맙(dostarlimab), JTZ-4014, 스파르탈리주맙(spartalizumab), 캄렐리주맙(camrelizumab), 신틸리맙(sintilimab), 티스렐리주맙(tislelizumab), 토리팔리맙(toripalimab), INCMGA00012, AMP-224 및 AMP-514에서 선택되는 PD-1 저해제와 조합으로 투여된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형은 펨브롤리주맙 또는 니볼루맙과 조합으로 투여된다.

[0457] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형은 아테졸리주맙, 아벨루맙(avelumab), 두르발루맙(durvalumab), KN035, CK-301, AUNP12, CA-170 또는 BMS-986189에서 선택되는 PD-L1 저해제와 조합으로 투여된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형은 아테졸리주맙과 조합으로 투여된다.

[0458] 본 출원은 전이의 위험을 감소시키거나, 전이를 예방하거나 치료하는 방법으로서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형을 원발성 종양의 치료와 동시에 투여하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 원발성 종양은 신경모세포종, 흑색종, 망막모세포종, 유잉 육종, 소세포 폐 종양, 신경교종, 골육종 또는 연조직 육종이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 원발성 종양은 신경모세포종이다.

[0459] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 바와 같은 rAAV 벡터 또는 이의 약학적 제형은, 상이한 종양 관련 항원을 표적으로 하는 상이한 이중특이적 융합 단백질을 인코딩하는 하나 이상의 AAV와 조합으로 투여된다.

[0460] **실시예**

[0461] 일반적으로 설명된 본 개시내용은 이제 하기 실시예를 참조로 보다 용이하게 이해될 것이며, 이러한 실시예는 단지 본 개시내용의 특정 양태 및 실시형태를 예시하기 위한 것으로 본 개시내용을 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0462] **실시예 1: AAV 전이유전자 작제물의 분자 클로닝**

[0463] 이중특이적 융합 단백질 전이유전자는, 5'→3' 방향으로, (i) 항-GD2 항체 VL 도메인을 인코딩하는 코돈 최적화된 뉴클레오타이드 서열; (ii) 첫 번째 scFv 링커 펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열; (iii) 항-GD2 항체 VH 도메인을 인코딩하는 코돈 최적화된 뉴클레오타이드 서열; (iv) 링커 펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열; (v) 항-CD3 항체 VH 도메인을 인코딩하는 코돈 최적화된 뉴클레오타이드 서열; (vi) 두 번째 scFv 링커 펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열; 및 (vii) 항-CD3 항체 VL 도메인을 인코딩하는 코돈 최적화된 뉴클레오타이드 서열을 작동 가능하게 연결시키는 방식으로 합성하였다.

[0464] 전이유전자 카세트는 CAG 프로모터 서열, 이중특이적 융합 단백질 전이유전자 및 소 성장 호르몬(BGH) 폴리아데닐화 서열을 작동 가능하게 연결시키는 방식으로 합성하였다. 전이유전자 카세트를 적절한 클로닝 벡터(예컨대, pUC)에 클로닝하고, DNA 시퀀싱을 통해 확인하였다. 확인한 작제물을 제한효소 소화시키고 겔 정제한 후, AAV2 ITR 부위와 카나마이신 내성 유전자를 함유하는 적절한 AAV8 백본 벡터에 클로닝하였다.

[0465] 결찰 후, DNA를 대장균(예컨대, VB UltraStable ™, Vector Builder, Chicago, IL)으로 형질전환시키고, 카나마이신 선택적 배지에서 성장시키고, 정제하였다. 성공적으로 결찰된 유전자 작제물을 제한효소 소화를 통해 식별하였다.

[0466] 이어서, 클론을 대장균에서 박테리아 형질전환시키는 방식으로 규모를 확장시켰다. 정확한 플라스미드 서열을 제한효소 소화를 통해 재확인하였다.

[0467] *일시적 트랜스펙션과 바이러스 패키징*

[0468] 확인한 AAV 벡터를 표준 인산칼슘 트랜스펙션 방법(예를 들어, Vandendriessche *et al.*, 2007. J Thromb Haemost 5:16-24에 기재된 바와 같음, 본원에 원용되어 포함됨)을 사용하여, AAV *cap* 유전자와 함께 AAV *rep* 유전자를 전달하는 패키징 작제물 및 아데노바이러스 헬퍼 플라스미드와 조합으로 HEK293 세포에 일시적으로 트랜스펙션시켰다. 트랜스펙션 2일 후, AAV 입자를 수확하고, 연속 2차례의 염화세슘 밀도 구배 초원심분리를 사용하여 정제하고, 적정하였다.

[0469] **실시예 2: GD2 및 CD3에 대한 이중특이적 융합 단백질의 결합**

[0470] 실시예 1에 기재된 바와 같은 정제된 AAV 입자를 사용하여 생산 세포(예컨대, HEK293 세포)에 형질도입하여 이중특이적 융합 단백질을 발현시켰다. 이중특이적 융합 단백질을 배양 상청액 및/또는 세포 용해물에서 수집 및

정제하고, GD2 및 CD3 결합에 대해 검정하였다.

[0471] GD2를 발현하는 인간 암 세포주(예컨대, GD2 발현 수준이 높은 세포주 또는 외인성 GD2를 발현하도록 조작된 세포주)를 사용하여 GD2에 대한 이중특이적 융합 단백질의 결합을 검정하였다. 다양한 농도의 이중특이적 융합 단백질을 GD2 발현 세포와 함께 인큐베이션하고, 형광단 접합된 2차 항체를 사용하여 결합을 검출하였다. 세포를 유세포분석을 통해 분석하고, GD2 결합 대조군 항체와 함께 인큐베이션한 세포의 결합과 비교하였다.

[0472] 유사하게, T세포주 또는 말초혈액 단핵세포(PBMC)를 사용하여 CD3에 대한 이중특이적 융합 단백질의 결합을 검정하였다. 다양한 농도의 이중특이적 융합 단백질을 T세포주 또는 PBMC와 함께 인큐베이션하고, 형광단 접합된 2차 항체를 사용하여 결합을 검출하였다. 세포를 유세포분석을 통해 분석하고, 항-CD3 대조군 항체와 함께 인큐베이션한 세포의 결합과 비교하였다.

[0473] 정제된 이중특이적 융합 단백질을 배양 배지 단독뿐 아니라, 100% 마우스 또는 풀링된 인간 혈청에서 희석 적정하는 방법을 사용하여 표준 공동배양 세포독성 검정을 수행하였다. 48시간 후 표준 조건 하에서 표적 세포의 10%(EC10), 50%(EC50) 및 90%(EC90)를 사멸시키는 데 필요한 이중특이적 융합 단백질의 농도를 결정하였다. GD2의 발현이 다른 10개의 상이한 세포주(예컨대, T98G, U87MG, C3c GBM 세포)에 대한 ED10/50/90을 결정하였다.

[0474] **실시예 3: 시험관내 T세포 매개 세포독성을 유도하는 이중특이적 융합 단백질**

[0475] 농도 구배 원심분리를 사용하여 인간 말초혈액 버피 코트에서 PBMC를 단리하였다. 이어서, PBMC를 다양한 농도의 이중특이적 융합 단백질 또는 대조군 α-GD2 항체의 존재 하에서 GD2를 발현하는 인간 암세포와 함께 공동배양하였다. 공동배양 후, 세포를 용해시키고, 상업적으로 입수 가능한 세포독성 검정을 사용하여 제조업체의 설명서(예컨대, CytoTox96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay, Promega, Madison, WI)에 따라 분석하였다.

[0476] **실시예 4: 용량 결정**

[0477] 인간 환자에서의 투여를 위한 벡터 용량과 혈청 수치를 결정하기 위해, 마우스에게 반로그(half-log) 증분으로 상이한 용량의 AAV(1×10^{11} vg/kg, 3×10^{11} vg/kg, 1×10^{12} vg/kg 및 3×10^{12} vg/kg)를 투여하고, 정상 상태(예컨대, 28일) 후 안정된 상태일 것으로 예측되는 시점에 안와 후방 혈액 채취를 통해 혈청 수치를 분석하였다. 동물 연구에서 벡터 용량은 실시예 2에서 결정된 바와 같이 대부분의 세포주에서 EC90을 초과하는 혈청 수치를 달성하는 용량으로 선택하였다.

[0478] **실시예 5: 전이를 예방하는 이중특이적 융합 단백질의 AAV8 전달**

[0479] 전이를 예방하는 데 있어 AAV8 전달 이중특이적 융합 단백질의 효능을 결정하기 위해, 마우스 치료를 (1) 국소 대조군 없음, (2) 종양 세포 붕괴성 HSV1, (3) 수술적 절제 및 (4) 방사선 요법으로 구성한다. 각각의 치료군에는 비교를 위해 자체 비히클 대조군(즉, 이중특이적 융합 단백질이 없음)을 포함시킨다.

[0480] GD2+ 인간 암세포(예컨대, GFP+ 또는 CD45-CD56+, CD81+, NB84+, GD2+ 세포)를 다양한 농도로 시험군의 마우스의 옆구리에 투여한 후, 마우스에 대조군 또는 정제된 AAV8을 투여하여 이중특이적 융합 단백질의 생체내 발현을 확인한다. 다양한 시점에 이식된 종양과 위성 전이(존재하는 경우)의 생물발광을 측정하는 방식으로 원발성 종양 크기와 전이 병변의 존재를 모니터링한다. 부검을 통해 전이를 확인하고/하거나 계수한다. 전이 조직(예컨대, 폐 및 간)을 면역조직화학 및/또는 유세포분석을 통해 T세포 침윤, 활성화 및/또는 소진에 대해 분석한다. 말초 T세포를 또한 2주마다 유세포분석을 통해 활성화 및 체크포인트 마커 발현에 대해 분석한다. 또한, 2주마다 유세포분석을 사용하여 순환 종양 세포를 모니터링한다.

[0481] 대안적으로, 다수의 신경모세포종 이종이식 모델 중 어느 하나를 사용한다(예컨대, TH-MYCN; Braekeveldt and Bexell, *Cell Tissue Res.* 2018; 372(2):233-243; Ornell and Coburn, *BMC Biomedical Engineering*. 2019; 33; Weiss *et al. Embo J.* 1997;16(11):2985-95). 예를 들어, 마우스(예컨대, Balb/c)에 루시퍼라아제 또는 녹색 형광 단백질(GFP)을 발현하는 GD2+ 인간 암세포를 피하 이식한다. 종양을 적절한 크기로 성장시킨 후, 마우스에게 대조군 또는 정제된 AAV8 입자를 정맥내 투여하여 이중특이적 융합 단백질의 생체내 발현을 확인한다. 다양한 시점에 이식된 종양과 위성 전이(존재하는 경우)의 생물발광을 측정하는 방식으로 원발성 종양 크기와 전이 병변의 존재를 모니터링한다. 부검을 통해 전이를 확인하고/하거나 계수한다. 전이 조직(예컨대, 폐 및 간)을 면역조직화학 및/또는 유세포분석을 통해 T세포 침윤, 활성화 및/또는 소진에 대해 분석한다. 말초 T세포를 또한 2주마다 유세포분석을 통해 활성화 및 체크포인트 마커 발현에 대해 분석한다. 또한, 2주마다 유세포분석을 사용하여 순환 종양 세포를 모니터링한다.

[0482] **실시예 6: AAV8 전달 이중특이적 융합 단백질의 면역원성과 시간 경과에 따른 발현 손실 측정**

[0483] AAV8 전달 이중특이적 융합 단백질이 면역 반응을 유도하는지를 결정하기 위해, AAV를 면역적격 C57Bl/6 마우스에 정맥내 투여한다. 처음 3개월 동안 이중특이적 융합 단백질 수치 측정을 위해 매주 혈액 검사를 수행하고, 다음 9개월 동안 매달 혈액 검사를 수행하는 방식으로 마우스를 모니터링한다. 안전성/독성을 판독하기 위해 각 혈액 채취 시 체중을 모니터링한다.

[0484] **실시예 7: 항-GD2/항-CD3ε 융합 단백질이 GD2 발현 세포주에 미치는 영향 평가**

[0485] 링커를 통해 연결된 두 가지 항-GD2 scFv(hu3F8V5와 14G2a) 중 하나와 두 가지 항-CD3 scFv(OKT3과 L2K-07) 중 하나를 함유하는 다섯 가지 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 중 하나를 각각 인코딩하는 AAV 작제물을 제조하였다. 추가의 스페이서 모이어티를 함유하는 하나의 hu3F8V5/OKT3 단백질(1169)을 제조하였다. AAV 작제물 설계는 **도 2a** 및 **도 2b**에 상세하게 설명되어 있다. **도 2b**의 작제물을 시험관내와 생체내에서 시험하여, 다이머트(dimert) 단백질을 생성하고 시험관내에서 일부 사멸을 유발함을 확인하였다(데이터는 표시되어 있지 않음). 옆구리 종양 모델에서, **도 2b**의 작제물은 옆구리 종양을 제어하지 못했다.

[0486] 293T세포에서의 단백질 생성과 GD2 발현 신경모세포종 세포주 SK-N-Be(2)-CD19, CHP-134-CD19 및 SK-N-AS-CD19에 대한 결합을 측정하는 방식으로 제조 가능성을 평가하였다(**도 3**). 이러한 결과는, 단백질 1172(hu3F8V5/L2K-07)가 293T세포에서 최상의 단백질 생산을 나타냈음을 보여준다.

[0487] 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질이 GD2 발현 신경모세포종 세포에 미치는 영향을 평가하기 위해, AAV 형질도입을 통해 대조군, 또는 상세화된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질(1169, 1170, 1172, 1173, 또는 1175) 중 하나를 생산하도록 조작된 293T세포에서 상청액을 수집하였다. SK-N-Be(2)-CD19, CHP-134-CD19 및 SK-N-AS-CD19 세포를 각각 인간 말초혈액 단핵세포(huPBMC) 및 293T세포에서 얻은 상청액과 이펙터:표적(E:T) 비 10:1로 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션 48시간 후, 표적 세포 생존능을 측정하였다(**도 4**). 결과에 따르면, GD2 발현 표적 세포를 huPBMC 및 이중특이적 융합 단백질 1169, 1170, 1172 및 1175로 공동처리한 경우에는 SK-N-AS-CD19의 표적 세포 사멸이 증가되었으나, SK-N-Be(2)-CD19 또는 CHP-134-CD19 세포의 경우에는 그렇지 않았다. 표적 세포를 GD2 발현에 대해 분석한 결과(**도 5a** 및 **도 5b**), 시험된 SK-N-Be(2)-CD19 세포와 CHP-134-CD19 세포 모두에서 표면 GD2 발현이 소실된 것으로 나타났다. 이러한 결과는, 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질이 표적 특이적 세포 사멸을 유도할 수 있음을 보여준다.

[0488] 다양한 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 GD2 발현 신경모세포종 세포에 대한 상대적인 세포 사멸 능력을 평가하기 위해, SK-N-AS, SK-N-Be(2) 및 CHP-134 세포뿐 아니라, CD19 발현 원형을 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질(1172, huOKT3/5F11-HDD 또는 CAG-193/dCGMRE)과 huPBMC를 E:T 비 10:1로 함유하는 293T 상청액과 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션 48시간 후, 표적 세포 생존능을 측정하였다(**도 6**). 이러한 결과는, 단백질 1172이 다른 시험된 단백질과 비교하여 우수한 세포 사멸을 유도하였으며, CHP-134에서는 효과가 감소되었음을 보여준다. 표적 세포를 GD2 발현에 대해 분석한 결과(**도 7**), 시험된 CHP-134 모세포와 CD19 세포 모두에서 표면 GD2 발현이 소실된 것으로 나타났다. 이러한 결과는, 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질이 표적 특이적 세포 사멸을 유도할 수 있음을 보여준다.

[0489] 추가 실험 전에, SK-N-AS, SK-N-Be(2) 및 CHP-134 신경모세포종 세포를 GD2 발현에 대해 평가하였다. 각 세포주의 5×10^5개 세포를 항-GD2 항체로 염색하고, 유세포분석을 통해 GD2 염색을 평가하였다(**도 8**). 결과에 따르면, 두 가지 정상 BT474 세포와 Clone 5 세포가 모두 GD2를 높은 수준으로 발현하였다. 이러한 결과는, SK-N-Be(2) 세포와 CHP-134 세포가 GD2 발현을 유지했음을 보여준다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 1172의 세포 사멸 능력을 평가하기 위해, CHP-134, SK-N-AS 및 SK-N-SH 세포를 0 pM, 10 pM, 100 pM 및 1000 pM 농도의 단백질 1172와 huPBMC를 E:T 비 10:1로 함유하는 293T 상청액과 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션 48시간 후, 표적 세포 생존능(**상단 패널**)과 GD2 발현(**하단 패널**)을 측정하였다(**도 9**).

[0490] 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 1172의 표적 특이적 세포 사멸 능력을 더 평가하기 위해, 다양한 신경모세포종 세포를 유세포분석을 통해 GD2 표면 발현에 대해 평가하였다(**도 10a** 및 **도 10b**). 이어서, 세포를 0 pM, 100 pM 및 1000 pM 농도의 단백질 1172와 huPBMC를 E:T 비 10:1로 함유하는 293T 상청액과 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션 48시간 후, 표적 세포 생존능을 측정하였다(**도 10c**). 이러한 결과는, 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 1172의 세포 사멸 능력이 표적 세포에서의 GD2의 표면 발현과 상관관계가 있음을 보여준다.

[0491] 인간 혈청이 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 1172의 표적 특이적 세포 사멸 능력에 미치는 잠재적인

영향을 평가하기 위해, 다양한 신경모세포종 세포주를 0 pM, 50 pM, 100 pM, 500 pM, 1000 pM 및 5000 pM 농도의 단백질 1172; 10%, 50% 및 100% 농도의 인간 혈청; 및 huPBMC를 E:T 비 10:1로 함유하는 293T 상청액과 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션 48시간 후, 표적 세포 생존능을 측정하였다(**도 11**). 이러한 결과는, 인간 혈청의 존재가 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 1172의 표적 특이적 세포 사멸 능력에 제한적인 영향을 미쳤음을 보여준다.

[0492] GD2 발현 폐 암종 세포에 대한 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 1172의 표적 특이적 세포 사멸 능력을 평가하기 위해, H446, H446-Luc 및 H2228 세포를 0 pM, 100 pM 및 1000 pM 농도의 단백질 1172와 huPBMC를 E:T 비 10:1로 함유하는 293T 상청액과 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션 48시간 후, 표적 세포 생존능을 측정하였다(**도 12**). 이러한 결과는, GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 1172가 GD2 발현 폐 암종 세포의 사멸을 성공적으로 매개했음을 보여준다.

[0493] **실시예 8: 항-GD2/항-CD3ε 융합 단백질의 효과에 대한 생체내 평가**

[0494] 원형 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질(GD2 scFv:5F11)의 항종양 효과(종양용해성 바이러스 탈리모겐 라허파렙벡(TVEC) 공동처리 존재 유무 하에서)를 평가하기 위해, SK-N-Be(2)-CD19/Luc 종양 보유 huPBMC-NSGS 마우스에 1 kg당 5 × 10^{12}개 게놈 카피(gc/kg)의 AAV 벡터(항-GD2/항-CD3ε 또는 GFP 대조군)를 주사하고, TVEC로 공동처리하였다. 모든 마우스에 단회 용량의 huPBMC를 공동주사하였다. 실험 개요는 **도 13a**에 제시되어 있고, GD2 표면 염색은 **도 13b**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 마우스 종양의 이미지는 **도 13c**에 제시되어 있다. 발광으로 측정된 종양 성장은 **도 13d**에 제시되어 있다. 각 군의 생존율은 **도 13e**에 제시되어 있다. 전반적인 마우스 체중은 **도 13f**에 제시되어 있다. 결과에 따르면, 다른 치료에 관계없이 TVEC 처리 마우스에서 독성이 나타났다. 후속 시험으로 SKNBe(2)-CD19/Luc 종양 세포에서 GD2 발현의 소실을 확인하였다.

[0495] 두 가지 신경모세포종 이종이식 모델에서 rAAV8-CAG-234-MRE 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 항종양 효과를 평가하기 위해, SK-N-Be(2)-Luc 또는 CHP134-Luc 종양을 보유하는 huPBMC-NSGS 마우스에 5 × 10^{12} gc/kg AAV 벡터 또는 대조군을 주사하였다. 실험 개요는 **도 14a**에 제시되어 있고, 종양 세포의 GD2 표면 염색은 **도 14b**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 SK-N-Be(2)-Luc 종양 보유 마우스의 이미지는 **도 14c**에 제시되어 있다. 발광 및 종양 부피로 측정된 종양 성장은, 각각, **도 14d** 및 **도 14e**에 제시되어 있다. 각 군의 생존율은 **도 14f**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 14g**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도의 표준 곡선은 **도 14h**에 제시되어 있다. 전반적인 마우스 체중은 **도 14i**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 CHP134-Luc 종양 보유 마우스의 이미지는 **도 14j**에 제시되어 있다. 발광 및 종양 부피로 측정된 종양 성장은, 각각, **도 14k** 및 **도 14l**에 제시되어 있다. 각 군의 생존율은 **도 14m**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 14n**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도의 표준 곡선은 **도 14o**에 제시되어 있다. 전반적인 마우스 체중은 **도 14p**에 제시되어 있다. 이러한 결과에 따르면, 두 가지 모델에서 모두 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 처리 마우스에 대한 생존율의 유의한 증가가 관찰되었다. 혈청 분석에 따르면, 순환 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질이 적절한 수치를 더 나타냈다.

[0496] 항-PDL1 또는 종양용해성 헤르페스 바이러스(HSV1716)와 조합된 rAAV8-CAG-234-MRE 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 항종양 효과를 평가하기 위해, CHP134-LUC 종양 보유 huPBMC-NSGS 마우스에 5 × 10^{12} gc/kg AAV 벡터 또는 대조군을 주사하였다. 종양 이식 후 14일차, 21일차 및 28일차에 huPBMC를 3회 투여하였다. 마우스의 서브세트에 100 μg의 항-PDL1을 5회(18일차, 21일차, 25일차, 28일차, 32일차, 35일차) 복강내 투여하거나, 종양 이식 후 18일차, 25일차 및 32일차에 1 × 10^{5} pfu의 HSV1716을 종양내 투여하였다. 실험 개요는 **도 15a**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 AAV 벡터 또는 대조군 + 항-PDL1로 처리된 종양 보유 마우스의 이미지는 **도 15b**에 제시되어 있다. 발광 및 종양 부피로 측정된 종양 성장은, 각각, **도 15c** 및 **도 15d**에 제시되어 있다. 각 군의 생존율은 **도 15e**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 15f**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도의 표준 곡선은 **도 15g**에 제시되어 있다. 전반적인 마우스 체중은 **도 15h**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 AAV 벡터, HSV1716 또는 AAV 벡터 + HSV1716으로 처리된 종양 보유 마우스의 이미지는 **도 15i**에 제시되어 있다. 발광 및 종양 부피로 측정된 종양 성장은, 각각, **도 15j** 및 **도 15k**에 제시되어 있다. 각 군의 생존율은 **도 15l**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 15m**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 농도의 표준 곡선은 **도 15n**에 제시되어 있다. 전반적인 마우스 체중은 **도 15o**에 제시되어 있다. 이러한 결과는, HSV1716 처리 단독으로도 유

의한 유익을 나타냄을 보여준다. 측정 가능한 원발성 종양이 없었던 두 마리 HSV1716 대조군 마우스에서는 전이성 질환이 발병했지만, 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 + HSV1716 복합 요법 마우스에서는 전이성 질환이 관찰되지 않았다.

[0497] 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 약동학을 평가하기 위해, NSGS 마우스에 10 μg(0.4 mg/kg)의 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 또는 5 × 10^{12} gc/kg AAV 벡터를 주사하였다. 지정된 시점에 혈청을 수집하였다. 주사 후 정제된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 16a**에 제시되어 있다. AAV에 의해 발현된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 16b**에 제시되어 있다. 이러한 결과는, 정제된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 수치가 주사 후 5시간 이내에 검출 임계값 아래로 떨어졌지만, AAV에 의해 발현된 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질은 72시간에 처음 검출 가능하였고 14일 이내에 정상 상태 농도에 도달했음을 보여준다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 지속적인 수치는 주사 후 200일까지 검출되었다.

[0498] 면역적격 마우스에서 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 약동학을 평가하기 위해, BALB/c 마우스에 5 × 10^{12} gc/kg AAV 벡터를 주사하고, 지정된 시점에 혈청을 수집하였다. 표시된 시점에서의 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 혈청 농도는 **도 17**에 제시되어 있다. 이러한 결과는, 14일 이내에 정상 상태 농도에 도달했음을 보여준다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 지속적인 수치는 주사 후 125일까지 검출되었다.

[0499] 파종성 질환에 대한 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법의 예비 시험을 위한 쥣과 CHLA255-luc 전이성 신경모세포종 모델을 개발하기 위해, NSG-SGM3 마우스의 안와 후방에 5 × 10^{12} gc/kg의 AAV 벡터 또는 GFP 대조군을 주사하였다. rAAV8 주사 후 25일차에, 마우스에 5 × 10^{6}개의 huPBMC를 주입하고, 그 후 5주마다(안와 후방 또는 꼬리 정맥) huPBMC를 주사하였다. 초기 huPBMC를 주입하고 4시간 후에 1 × 10^{6}개의 인간 CHLA255-Luc 신경모세포종 세포를 이러한 마우스의 꼬리 정맥에 주사하는 방식으로 전이성 질환을 확립하였다. 시약에 관계없이 모든 주사는 희석제로 멸균 PBS를 사용하여 총 부피 100 μL로 준비하였다. 혈청 약동학 분석을 위해 rAAV8 주사 후 21일차에 각 마우스의 안와 후동에서 소량의 혈액을 수집하였다. Xenogen IVIS 스펙트럼을 이용하여 마우스를 종양 성장에 대해 모니터링하고, Living Image 4.4 소프트웨어(Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA)를 이용하여 질환 진행을 분석하였다. 마우스 이미지화는 종양 세포 주사 후 7일차에 개시한 후 실험 평가변수 기준을 충족할 때까지 매주 수행하였고, 그 후 동물을 인도적으로 안락사시켰다. 모든 생존 동물을 조직학적 분석을 위해 42일차에 희생시켰다. 처리군과 대조군에서 이식편대숙주병에 대한 일부 증거가 관찰되었다. 실험 개요는 **도 18a**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 종양 보유 마우스의 이미지는 **도 18b**에 제시되어 있다. 발광으로 측정된 종양 성장은 **도 18c**에 제시되어 있다. 전반적인 마우스 체중은 **도 18d**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 18e**에 제시되어 있다. 부검을 통해 추출한 마우스 기관의 이미지는 **도 18f**에 제시되어 있다. 뇌 샘플과 간 샘플의 형광 이미지는, 각각, **도 18g**와 **도 18h**에 제시되어 있다. 뇌, 간 및 폐 조직의 형광 이미지 비교는 **도 18i**에 제시되어 있다. 순환 면역 세포의 측정은 **도 18j**에 제시되어 있다. 이러한 결과에 따르면, 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법은 대조군에 비해 전이성 질환의 성장을 예방하거나 제어하였다.

[0500] AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법의 효능을 평가하기 위한 쥣과 CHLA255-luc 전이성 신경모세포종 모델을 개발하기 위해, NSG-SGM3 마우스의 안와 후방에 1 kg당 5 × 10^{12}개 게놈 카피(gc/kg)의 AAV 벡터 또는 GFP 대조군을 주사하였다. rAAV8 주사 후 25일차에, 마우스에 5 × 10^{6}개의 huPBMC를 주입하고, 그 후 4주마다(안와 후방 또는 꼬리 정맥) huPBMC를 주사하였다. 초기 huPBMC를 주입하고 4시간 후에 1 × 10^{5}개 또는 5 × 10^{5}개의 인간 CHLA255-Luc 신경모세포종 세포를 이러한 마우스의 꼬리 정맥에 주사하는 방식으로 전이성 질환을 확립하였다. 시약에 관계없이 모든 주사는 희석제로 멸균 PBS를 사용하여 총 부피 100 μL로 준비하였다. 혈청 약동학 분석을 위해 rAAV8 주사 후 21일차에 각 마우스의 안와 후동에서 소량의 혈액을 수집하였다. Xenogen IVIS 스펙트럼을 이용하여 마우스를 종양 성장에 대해 모니터링하고, Living Image 4.4 소프트웨어(Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA)를 이용하여 질환 진행을 분석하였다. 마우스 이미지화는 종양 세포 주사 후 7일차에 개시한 후 실험 평가변수 기준을 충족할 때까지 매주 수행하였고, 그 후 동물을 인도적으로 안락사시켰다. 실험 개요는 **도 19a**에 제시되어 있다. 표시된 일자에 5 × 10^{5}개를 주사한 마우스의 이미지는 **도**

19b에 제시되어 있다. 마우스의 전체 생존율은 **도 19c**에 제시되어 있고, 전반적인 마우스 체중은 **도 19d**에 제시되어 있다. 표시된 일자에 1 × 10^5개를 주사한 마우스의 이미지는 **도 19e**에 제시되어 있다. 마우스의 전체 생존율은 **도 19f**에 제시되어 있고, 전반적인 마우스 체중은 **도 19g**에 제시되어 있다. 이러한 결과에 따르면, AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법은 대조군에 비해 전이성 질환의 성장을 예방하거나 제어하였다.

[0501] 확립된 전이성 신경모세포종 모델에서 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법의 효능을 시험하기 위해, NSG-SGM3 마우스의 안와 후방에 5 × 10^{12} gc/kg의 AAV 벡터 또는 GFP 대조군을 주사하였다. 1 × 10^6개의 인간 CHLA255-Luc 신경모세포종 세포를 이러한 마우스의 꼬리 정맥에 주사하는 방식으로 전이성 질환을 확립하였다. 종양 이식 후 7일차에, 마우스에 5 × 10^6개의 huPBMC를 주입하고, 그 후 3주마다(안와 후방 또는 꼬리 정맥) huPBMC를 주사하였다. 본 연구에 총 20마리 마우스를 사용하였으며, 성별에 따라 균등하게 나누었다. 처리군과 대조군은, 각각, 수컷 5마리 마우스와 암컷 5마리 마우스로 이루어져 있었다. 시약에 관계없이 모든 주사는 희석제로 멸균 PBS를 사용하여 총 부피 100 μL로 준비하였다. 혈청 약동학 분석을 위해 rAAV8 주사 후 21일차에 각 마우스의 안와 후동에서 소량의 혈액을 수집하였다. Xenogen IVIS 스펙트럼을 이용하여 마우스를 종양 성장에 대해 모니터링하고, Living Image 4.4 소프트웨어(Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA)를 이용하여 질환 진행을 분석하였다. 마우스 이미지화는 종양 세포 주사 후 7일차에 개시한 후 실험 평가변수 기준을 충족할 때까지 매주 수행하였고, 그 후 동물을 인도적으로 안락사시켰다. 실험 개요는 **도 20a**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 종양 보유 마우스의 이미지는 **도 20b**에 제시되어 있다. 발광으로 측정된 종양 성장은 **도 20c**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 20d**에 제시되어 있다. 마우스의 전체 생존율은 **도 20e**에 제시되어 있고, 전반적인 마우스 체중은 **도 20f**에 제시되어 있다. 이러한 결과에 따르면, AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질로 처리된 암컷 마우스에서는 종양 성장이 약간 지연되었지만, 5마리 수컷 중 4마리에서는 종양이 없어졌고 궁극적으로는 GvHD에 걸렸다. 수컷 마우스는 또한 암컷 마우스이 비해 혈청 내 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질이 대략 2배인 것으로 확인되었다.

[0502] 종양 씨딩 직후 CHLA255-luc 전이성 결절의 성장을 예방하는 데 있어 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법의 효능을 시험하기 위해, NSG-SGM3 마우스의 안와 후방에 5 × 10^{12} gc/kg의 AAV 벡터 또는 GFP 대조군을 주사하였다. rAAV8 주사 후 25일차에, 1 × 10^6개의 인간 CHLA255-Luc 신경모세포종 세포를 이러한 마우스의 꼬리 정맥에 주사하는 방식으로 전이성 질환을 확립하였다. 종양을 이식하고 4시간 후에 마우스에 1 × 10^6개의 huPBMC를 주입하고, 그 후 4주마다(안와 후방 또는 꼬리 정맥) huPBMC를 주사하였다. 시약에 관계없이 모든 주사는 희석제로 멸균 PBS를 사용하여 총 부피 100 μL로 준비하였다. 혈청 약동학 분석을 위해 rAAV8 주사 후 21일차에 각 마우스의 안와 후동에서 소량의 혈액을 수집하였다. Xenogen IVIS 스펙트럼을 이용하여 마우스를 종양 성장에 대해 모니터링하고, Living Image 4.4 소프트웨어(Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA)를 이용하여 질환 진행을 분석하였다. 마우스 이미지화는 종양 세포 주사 후 7일차에 개시한 후 실험 평가변수 기준을 충족할 때까지 매주 수행하였고, 그 후 동물을 인도적으로 안락사시켰다. 모든 생존 동물을 조직학적 분석을 위해 42일차에 희생시켰다. 처리군과 대조군에서 이식편대숙주병에 대한 일부 증거가 관찰되었다. 실험 개요는 **도 21a**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 종양 보유 마우스의 이미지는 **도 21b**에 제시되어 있다. 발광으로 측정된 종양 성장은 **도 21c**에 제시되어 있다. 마우스의 전체 생존율은 **도 21d**에 제시되어 있고, 전반적인 마우스 체중은 **도 21e**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 21f**에 제시되어 있다.

[0503] GD2 발현 폐 암종 모델에서 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법의 효능을 시험하기 위해, 수컷 마우스의 안와 후방에 1 × 10^{12} gc/kg의 AAV 벡터 또는 GFP 대조군을 주사하고, 암컷 마우스에는 2 × 10^{12} gc/kg, 3 × 10^{12} gc/kg 또는 1 × 10^{13} gc/kg의 AAV 벡터, 또는 GFP 대조군(군당 n = 5마리)을 주사하였다. 모든 rAAV8 주사는 1 × 10^6개의 H446-Luc 소세포폐암 세포를 꼬리 정맥에 주사하기 25일 전에 수행하였다. 종양 이식 후 3일차에 huPBMC를 투여하고, 그 후 매주 총 4회 주입하였다. 대조군으로 사용하기 위해 2 × 10^{12} gc/kg rAAV8 용량 수준으로 지정된 암컷 마우스에 동일한 용량의 PBS(huPBMC 없음)를 주입하였다. 실험 개요는 **도 22a**에 제시되어 있다. 표시된 일자의 종양 보유 마우스의 이미지는 **도 22b**에 제시되어 있다. 발광으로 측정된 종양 성장은 **도 22c**에 제시되어 있다. 마우스의 전체 생존율은 **도 22d**에 제시되어 있고, 전반적인 마우스 체중은 **도 22e**에 제시되어 있다. 항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질의 농도는 **도 22f**에 제시되어 있다. 이러한 결과는, 전이성 종양이 3주 내지 4주 후에 주로 마우스의 흉부 및 두개골 영역에서 관찰되었음을

보여준다.

[0504] 또 다른 실험에서, 25마리 NSG-SGM3 마우스(암컷 10마리, 수컷 15마리)에 1 x 10^6개의 H446-Luc 세포를 측면 꼬리 정맥을 통해 주사하였으며, 누락된 몇몇 주사는 대안적으로 안와 후방 경로를 통해 투여하였지만, 이러한 동물은 궁극적으로 추가 분석에서 배제되었다. 종양 주사 후 17일차에, 마우스에 5 x 10^6개의 huPBMC를 주입하고, 그 후 매주 총 4회 주입하였다. 종양 주사 후 18일차에, 마우스의 안와 후방에 rAAV8-αGD2-αCD3을 주사하였다(비슷한 수준의 순환 다이머트(dimert) 단백질을 달성하기 위해 수컷의 경우 5 x 10^{12} gc/kg 또는 암컷의 경우 2.5 x 10^{13} gc/kg). 혈청 약동학 분석을 위해 rAAV8 주사 후 21일차에 각 마우스의 안와 후동에서 소량의 혈액을 수집하였다. 마우스 이미지화는 종양 세포 주사 후 18일차에 개시한 후 실험 평가변수 기준을 충족할 때까지 매주 수행하였고, 그 후 동물을 인도적으로 안락사시켰다.

[0505] 또 다른 실험에서, 25마리 NSG-SGM3 마우스(암컷 10마리, 수컷 15마리)에 1 x 10^6개의 CHLA255-Luc 세포를 측면 꼬리 정맥을 통해 주사하였으며, 본 연구는 시약 제조자, 키 마스터(key master)(맹검), 게이트 키퍼(gate keeper)(외부 인력), 데이터 수집가(맹검), 데이터 분석가(맹검) 및 분석 후 평가자(맹검되지 않음)의 역할을 하는 최소 3명의 실험실 인력과 한 명의 외부 인력이 참여하는 실험실 프로토콜에 따라 이중 맹검으로 수행되었다. 종양 세포 주사 후 6일차에 huPBMC를 투여하고, 그 후 매주 총 5회 주입하였다. 종양 이식 후 7일차에, rAAV8-αGD2-αCD3(수컷의 경우 5 x 10^{12} gc/kg 또는 암컷의 경우 2.5 x 10^{13} gc/kg) 또는 5 x 10^{12} gc/kg의 rAAV8-GFP를 마우스의 안와 후방에 투여하였다. 혈청 약동학 분석을 위해 rAAV8 주사 후 21일차에 각 마우스의 안와 후동에서 소량의 혈액을 수집하였다. 이 시점에도, 마우스를 종양 성장, 체중/행동 변화, 및 생존에 대해 모니터링하고 있다. 각 마우스 처리의 정체성은 실험의 종결 시 맹검 해제된다.

[0506] **실시예 9: 항-GD2/항-CD3ε 융합 단백질이 암 재발 예방에 미치는 효과에 대한 생체내 평가**

[0507] hu-PBMC-NSG-SGM3 마우스의 전이성 BT474 Clone 5 종양 모델을 사용하여, 암 재발을 예방하는 데 있어 AAV8-항-GD2/항-CD3ε 이중특이적 융합 단백질 요법의 항종양 잠재력을 평가하였다.

[0508] 간략하게, 마우스를 다음과 같은 3개의 군으로 나누었다: 미처리군, AAV8-GFP 대조군 + huPBMC, 및 AAV8-항-GD2/항-CD3ε + huPBMC. 1.0 × 10^6개의 BT474 Clone 5 EGFP-Luc 종양 세포를 각 마우스의 꼬리 정맥에 주사하였다. 종양 접종 4일 후, 마우스의 체중을 측정하고, 화학요법제(예컨대, 젬시타빈(germcitabine))로 처리하였다. 화학요법 치료는 14일차, 21일차, 28일차, 35일차 및 42일차에 수행하였다. 이어서, 화학요법 치료를 중단하고, 마우스를 AAV 작용제로 치료한 후, AAV 작용제와 huPBMC로 치료하였다. AAV 및 huPBMC 처리를 14일차, 21일차, 28일차, 35일차 및 42일차에 반복하였다. 마우스를 체중 측정, 생체내 이미지화(IVIS) 및 생존에 대해 추적하였다.

[0509] **참조로서의 포함**

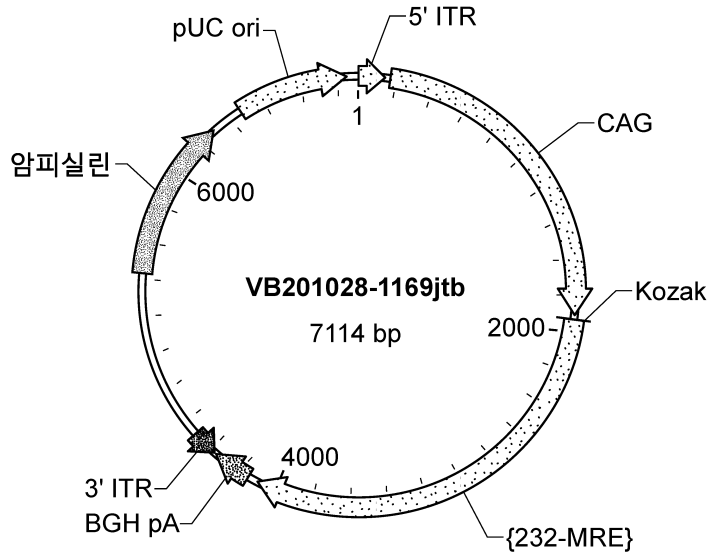
[0510] 본원에 참조된 특허 문헌과 과학 논문의 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 참조로 인용된다.

[0511] **등가물**

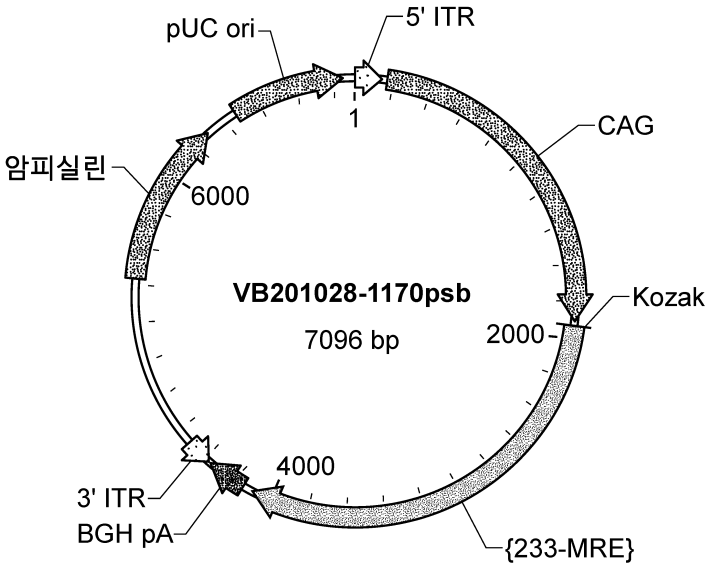
[0512] 본 개시내용은 본 발명의 사상 또는 근본적인 특징에서 벗어나지 않는 한 다른 특정 형태로 구현될 수 있다. 따라서, 전술한 실시형태는 본원에 기재된 개시내용을 제한하는 것이 아니라, 모든 양태에서 예시적으로 간주되어야 한다. 따라서, 본 개시내용의 범위는 전술한 설명이 아니라 첨부된 청구범위로 제시되며, 청구범위의 동등성의 의미 및 범위 내에서 이루어지는 모든 변경은 본원에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

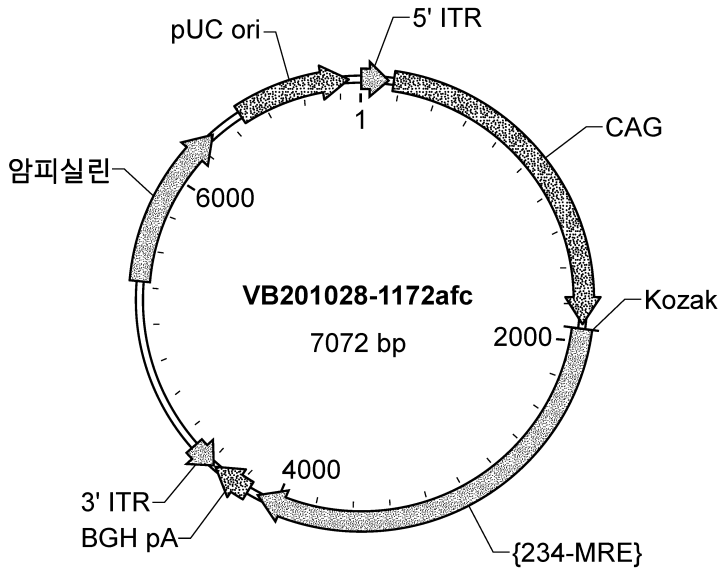
도면1a


pUC ori
5' ITR
1
CAG
암피실린
6000
VB201028-1169jtb
7114 bp
Kozak
2000
4000
3' ITR
BGH pA
{232-MRE}

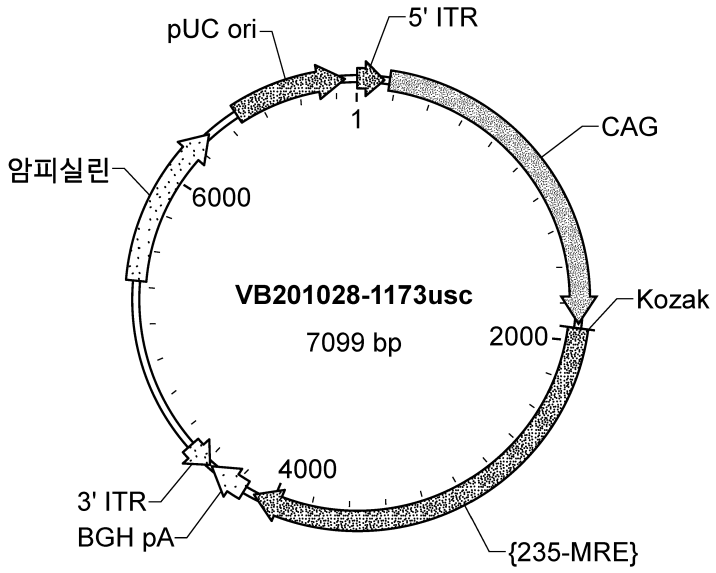
도면1b


pUC ori
5' ITR
1
CAG
암피실린
6000
VB201028-1170psb
7096 bp
Kozak
2000
4000
3' ITR
BGH pA
{233-MRE}

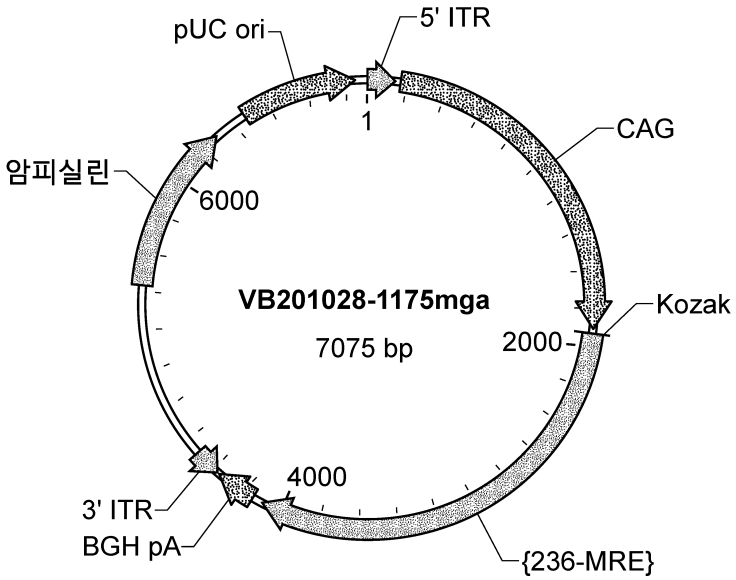
도면1c


pUC ori
5' ITR
1
CAG
암피실린
6000
VB201028-1172afc
7072 bp
Kozak
2000
4000
3' ITR
BGH pA
{234-MRE}

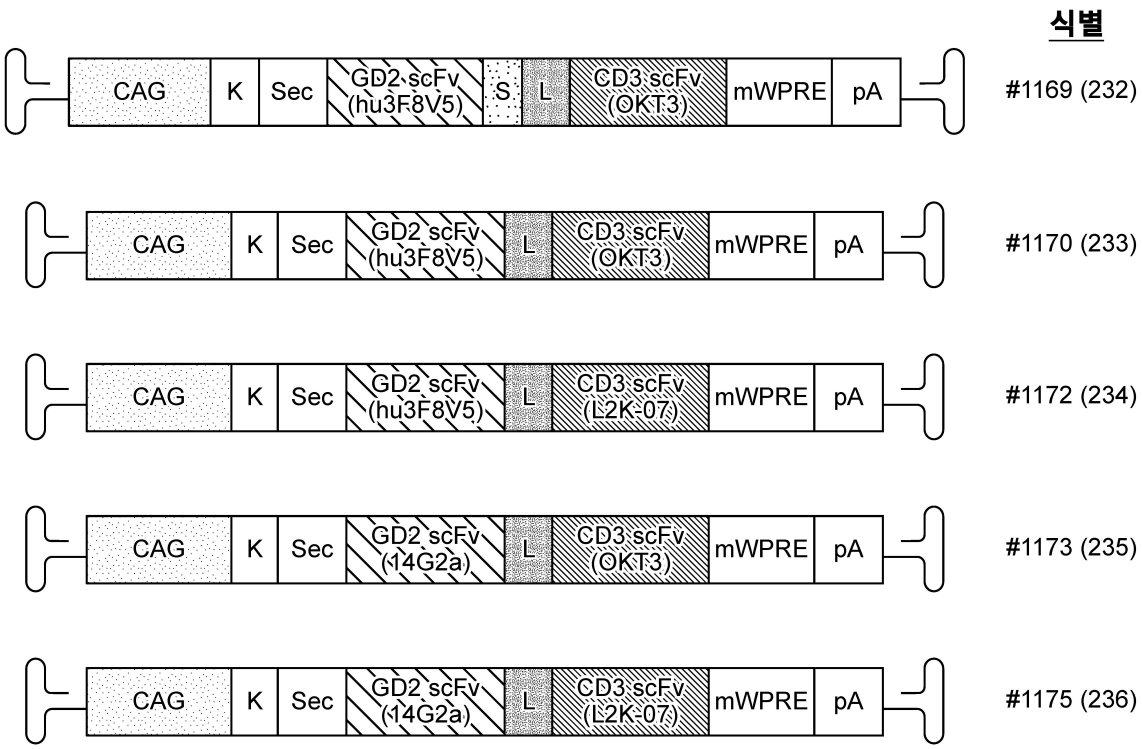
도면1d


pUC ori
5' ITR
1
CAG
암피실린
6000
VB201028-1173usc
7099 bp
Kozak
2000
4000
3' ITR
BGH pA
{235-MRE}

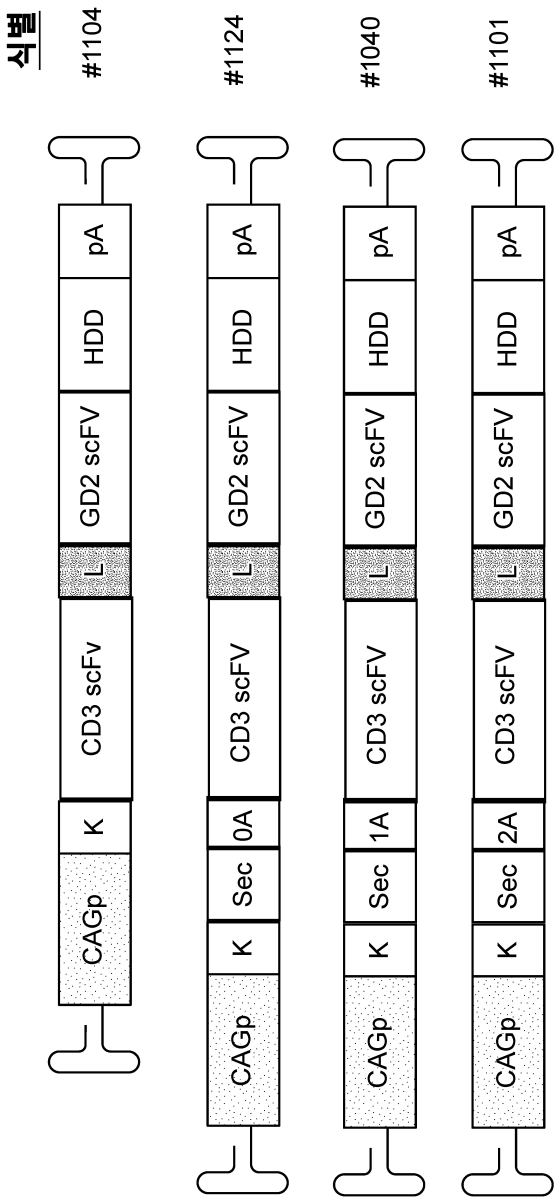
도면1e


pUC ori
5' ITR
1
CAG
암피실린
6000
VB201028-1175mga
7075 bp
2000
Kozak
4000
3' ITR
BGH pA
{236-MRE}

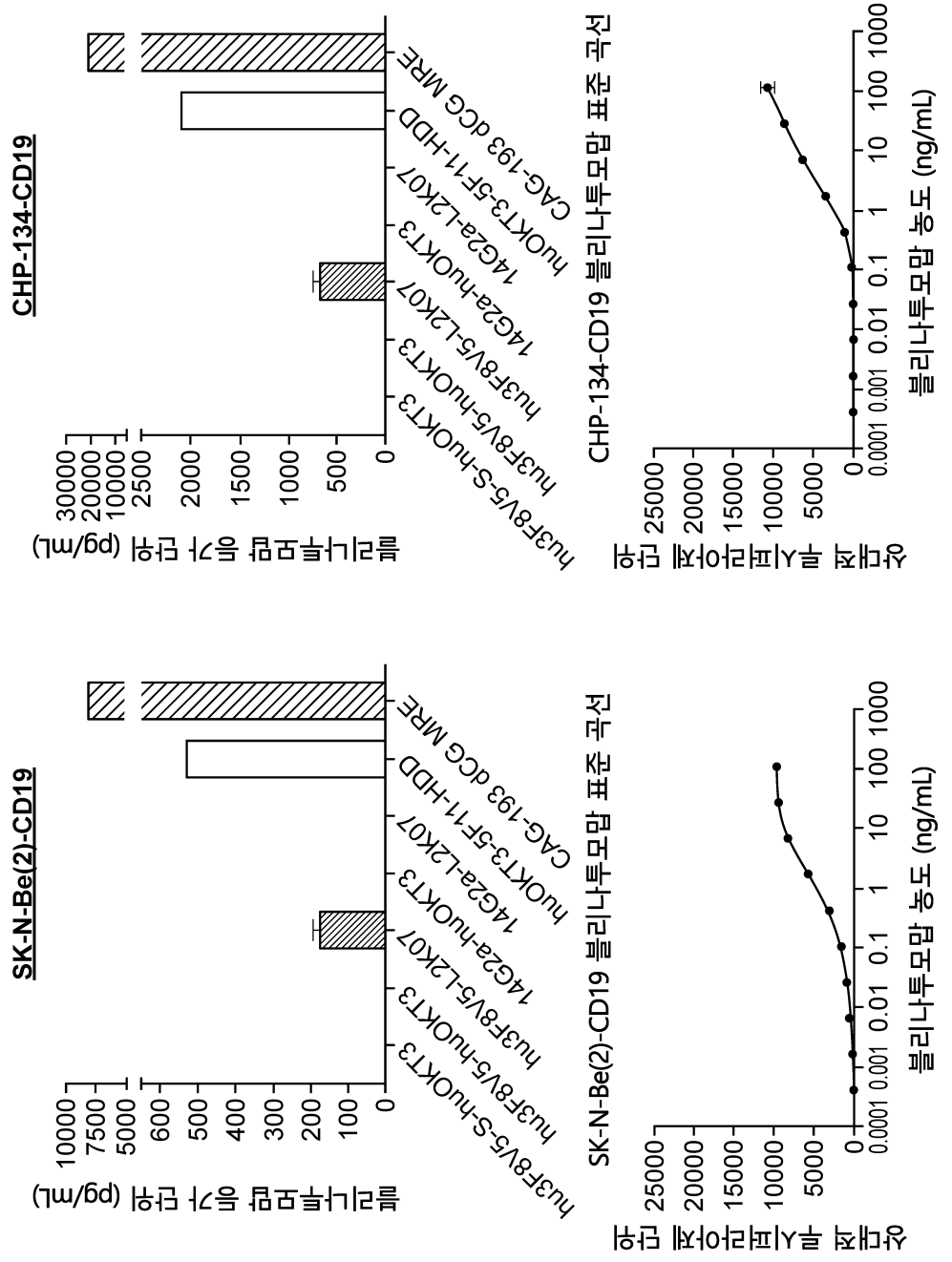
도면2a


식별
CAG
K
Sec
GD2 scFv (hu3F8V5)
S
L
CD3 scFv (OKT3)
mWPRE
pA
#1169 (232)
CAG
K
Sec
GD2 scFv (hu3F8V5)
L
CD3 scFv (OKT3)
mWPRE
pA
#1170 (233)
CAG
K
Sec
GD2 scFv (hu3F8V5)
L
CD3 scFv (L2K-07)
mWPRE
pA
#1172 (234)
CAG
K
Sec
GD2 scFv (14G2a)
L
CD3 scFv (OKT3)
mWPRE
pA
#1173 (235)
CAG
K
Sec
GD2 scFv (14G2a)
L
CD3 scFv (L2K-07)
mWPRE
pA
#1175 (236)

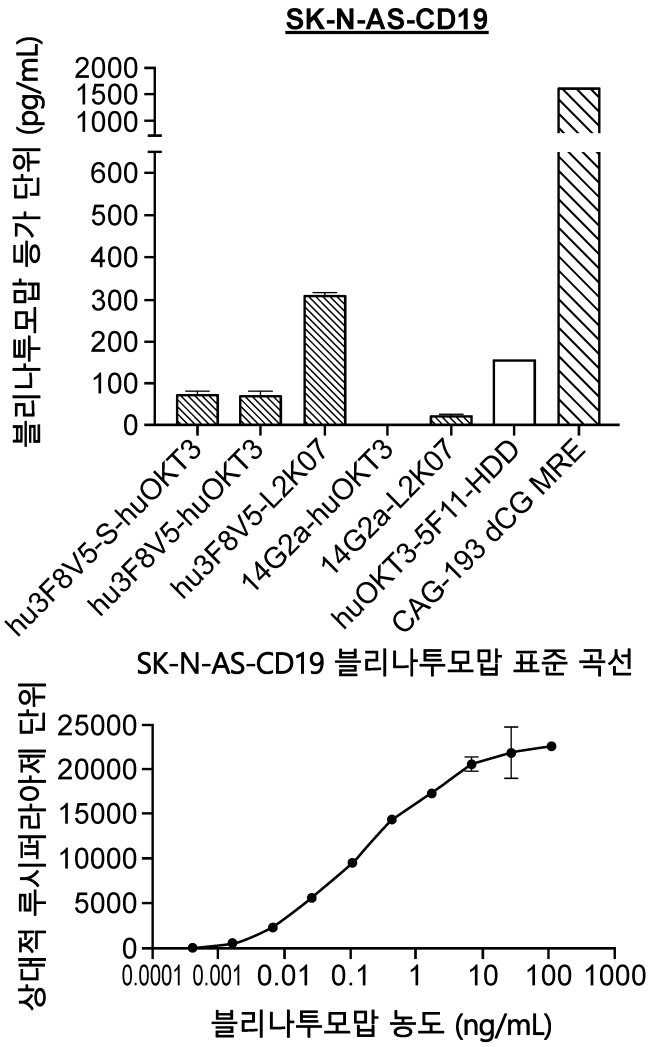
도면2b


식별
#1104
#1124
#1040
#1101
CAGp
K
CD3 scFv
L
GD2 scFV
HDD
pA
CAGp
K
Sec
0A
CD3 scFV
L
GD2 scFV
HDD
pA
CAGp
K
Sec
1A
CD3 scFV
L
GD2 scFV
HDD
pA
CAGp
K
Sec
2A
CD3 scFV
L
GD2 scFV
HDD
pA

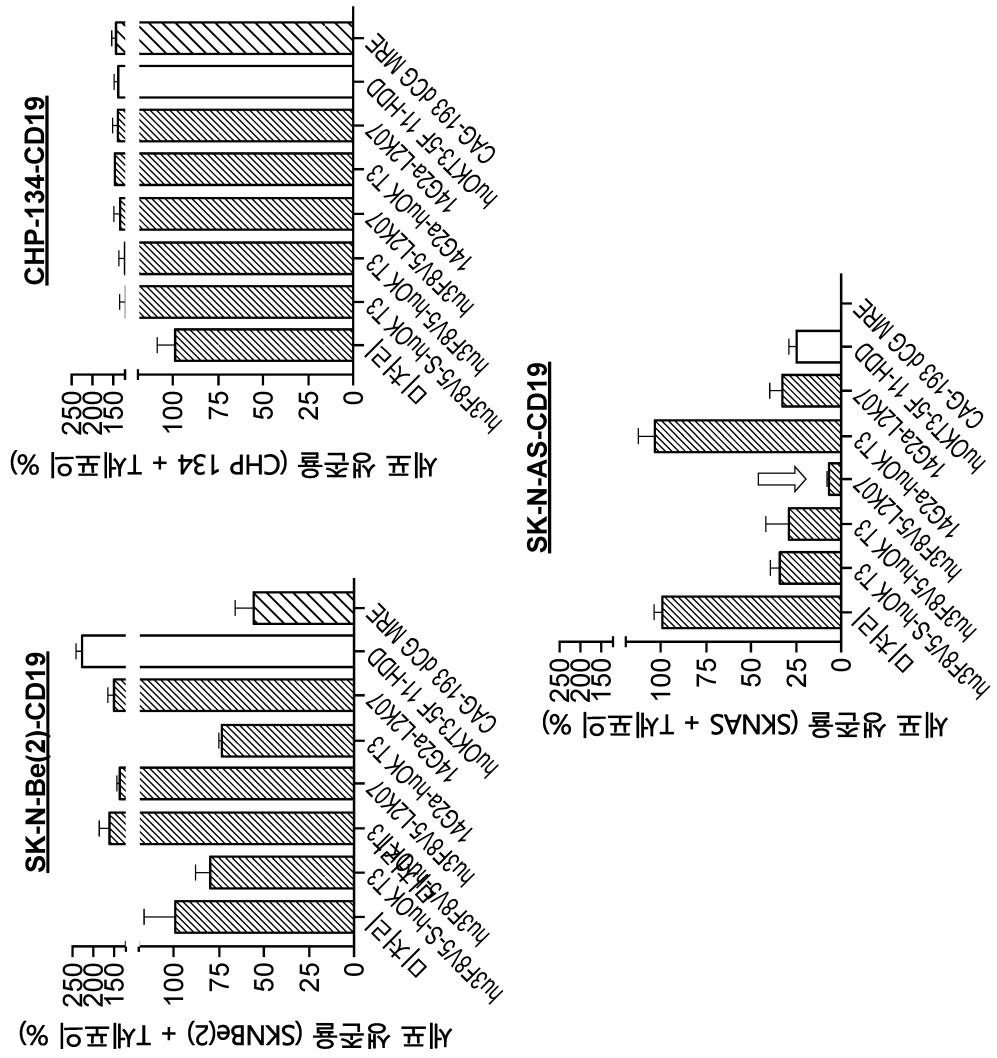
도면3a


CHP-134-CD19
블리나투모맙 등가 단위 (pg/mL)
hu3F8V5-S-huOKT3
hu3F8V5-huOKT3
hu3F8V5-L2K07
14G2a-huOKT3
14G2a-L2K07
huOKT3-5F11-HDD
CAG-193 dCG MRE
CHP-134-CD19 블리나투모맙 표준 곡선
상대적 루시퍼라제 단위
블리나투모맙 농도 (ng/mL)
SK-N-Be(2)-CD19
SK-N-Be(2)-CD19 블리나투모맙 표준 곡선

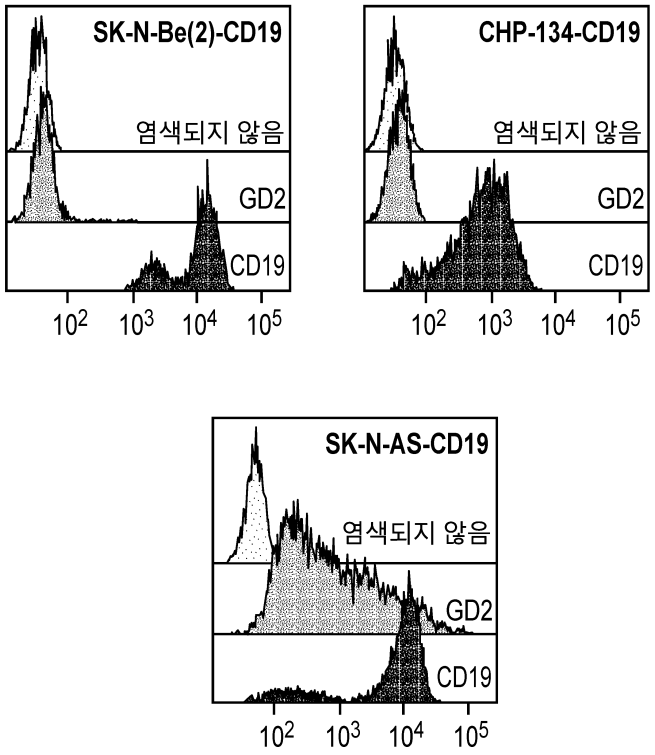
도면3b


SK-N-AS-CD19
블리나투모맙 등가 단위 (pg/mL)
2000
1500
1000
600
500
400
300
200
100
0
hu3F8V5-S-huOKT3
hu3F8V5-huOKT3
hu3F8V5-L2K07
14G2a-huOKT3
14G2a-L2K07
huOKT3-5F11-HDD
CAG-193 dCG MRE
SK-N-AS-CD19 블리나투모맙 표준 곡선
상대적 루시퍼라아제 단위
25000
20000
15000
10000
5000
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000
블리나투모맙 농도 (ng/mL)

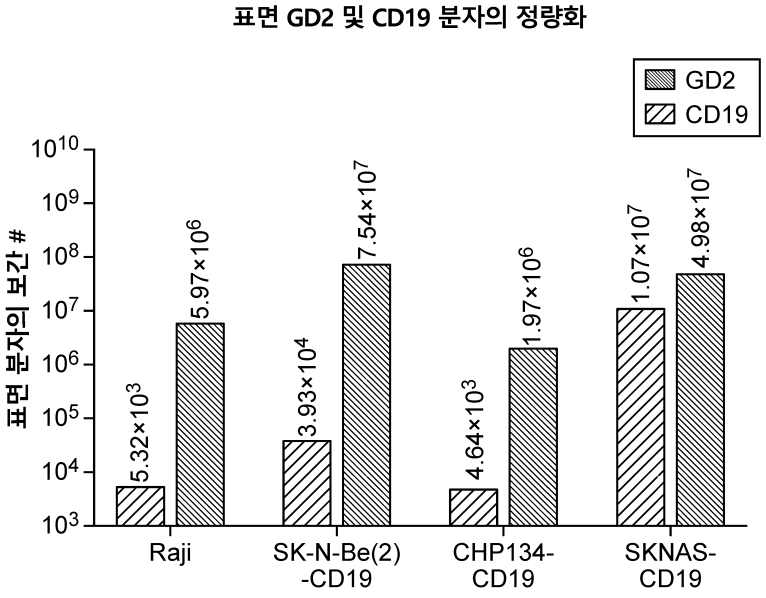
도면4


SK-N-Be(2)-CD19
세포 생존율 (SKNBe(2) + T세포의 %)
CHP-134-CD19
세포 생존율 (CHP 134 + T세포의 %)
SK-N-AS-CD19
세포 생존율 (SKNAS + T세포의 %)
0
25
50
75
100
150
200
250
미처리
hu3F8VL5-S-huOK T3
hu3F8VL5-huOK T3
hu3F8VL5-L2K07 T3
14G2a-huOK T3
14G2a-L2K07 T3
huOKT3-5F 11-HDD
CAG-193 dCG MRE

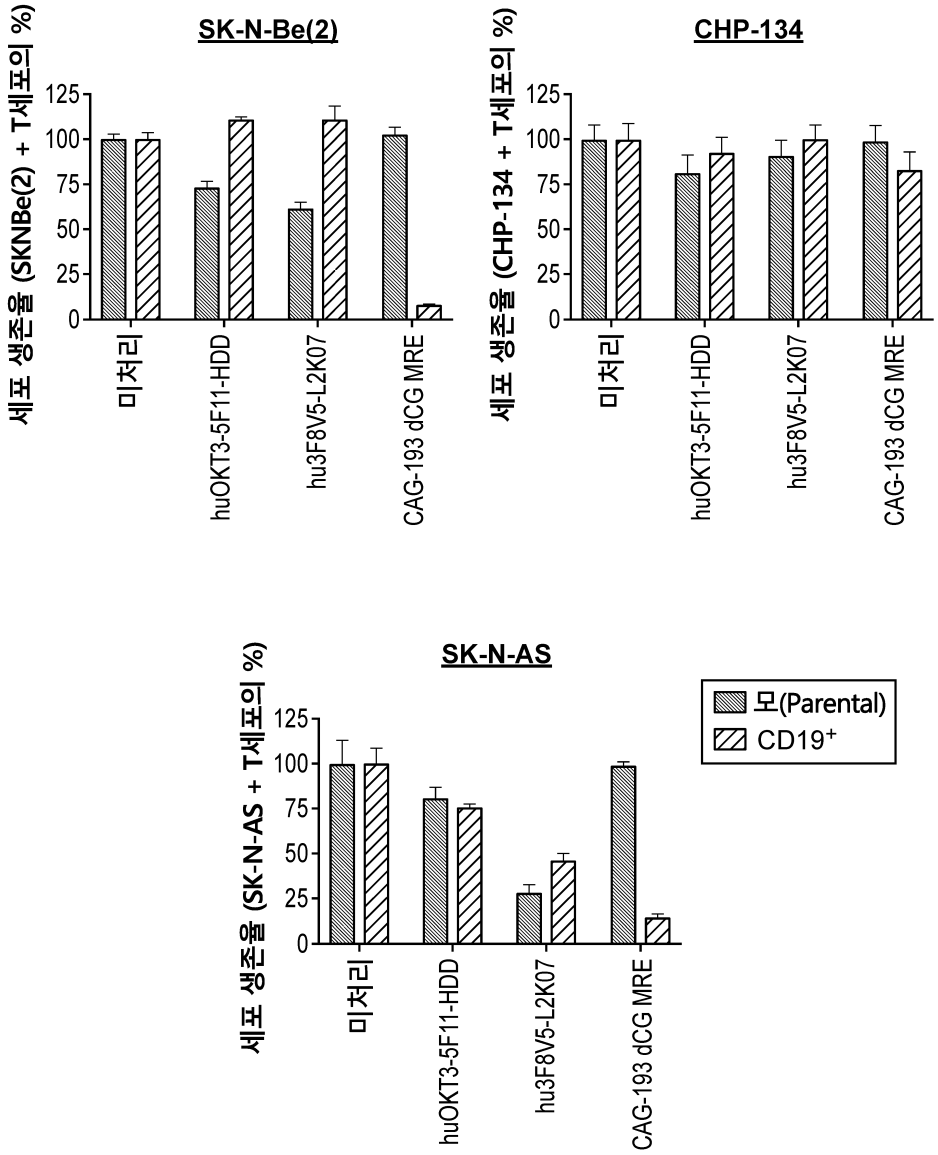
도면5a


SK-N-Be(2)-CD19
염색되지 않음
GD2
CD19
10^2 10^3 10^4 10^5
CHP-134-CD19
염색되지 않음
GD2
CD19
10^2 10^3 10^4 10^5
SK-N-AS-CD19
염색되지 않음
GD2
CD19
10^2 10^3 10^4 10^5

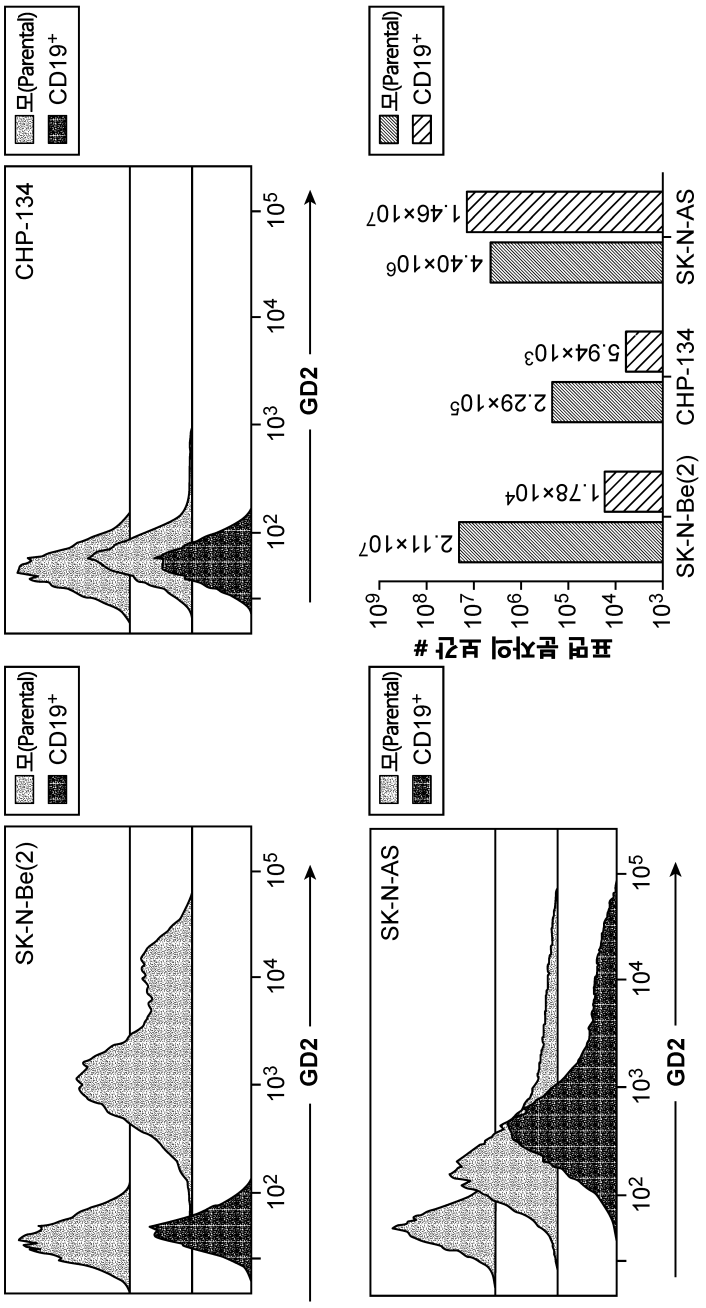
도면5b


표면 GD2 및 CD19 분자의 정량화
GD2
CD19
표면 분자의 보간 #
10^{10}
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
5.32×10^3
5.97×10^6
3.93×10^4
7.54×10^7
4.64×10^3
1.97×10^6
1.07×10^7
4.98×10^7
Raji
SK-N-Be(2)
-CD19
CHP134-
CD19
SKNAS-
CD19

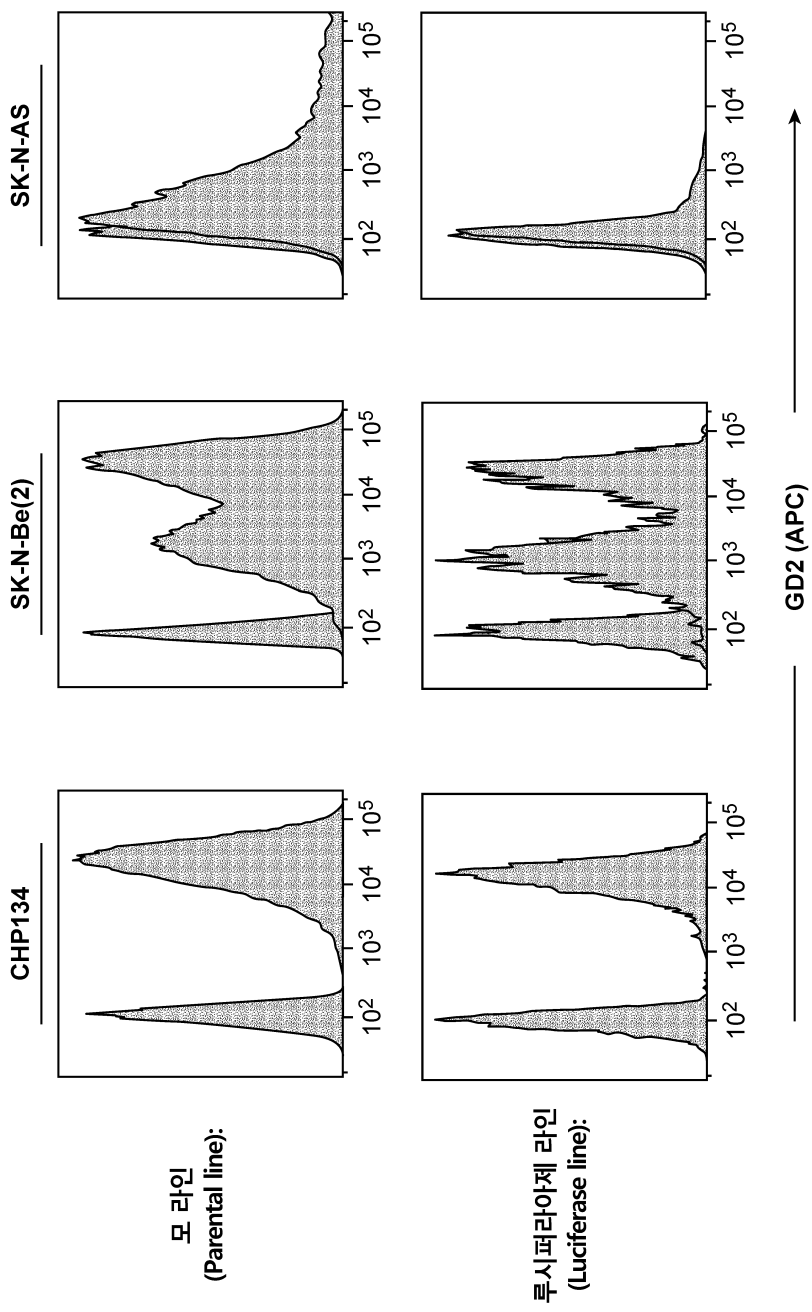
도면6


SK-N-Be(2)
세포 생존율 (SKNBe(2) + T세포의 %)
125
100
75
50
25
0
미처리
huOKT3-5F11-HDD
hu3F8V5-L2K07
CAG-193 dCG MRE
CHP-134
세포 생존율 (CHP-134 + T세포의 %)
125
100
75
50
25
0
미처리
huOKT3-5F11-HDD
hu3F8V5-L2K07
CAG-193 dCG MRE
SK-N-AS
세포 생존율 (SK-N-AS + T세포의 %)
125
100
75
50
25
0
미처리
huOKT3-5F11-HDD
hu3F8V5-L2K07
CAG-193 dCG MRE
모(Parental)
CD19+

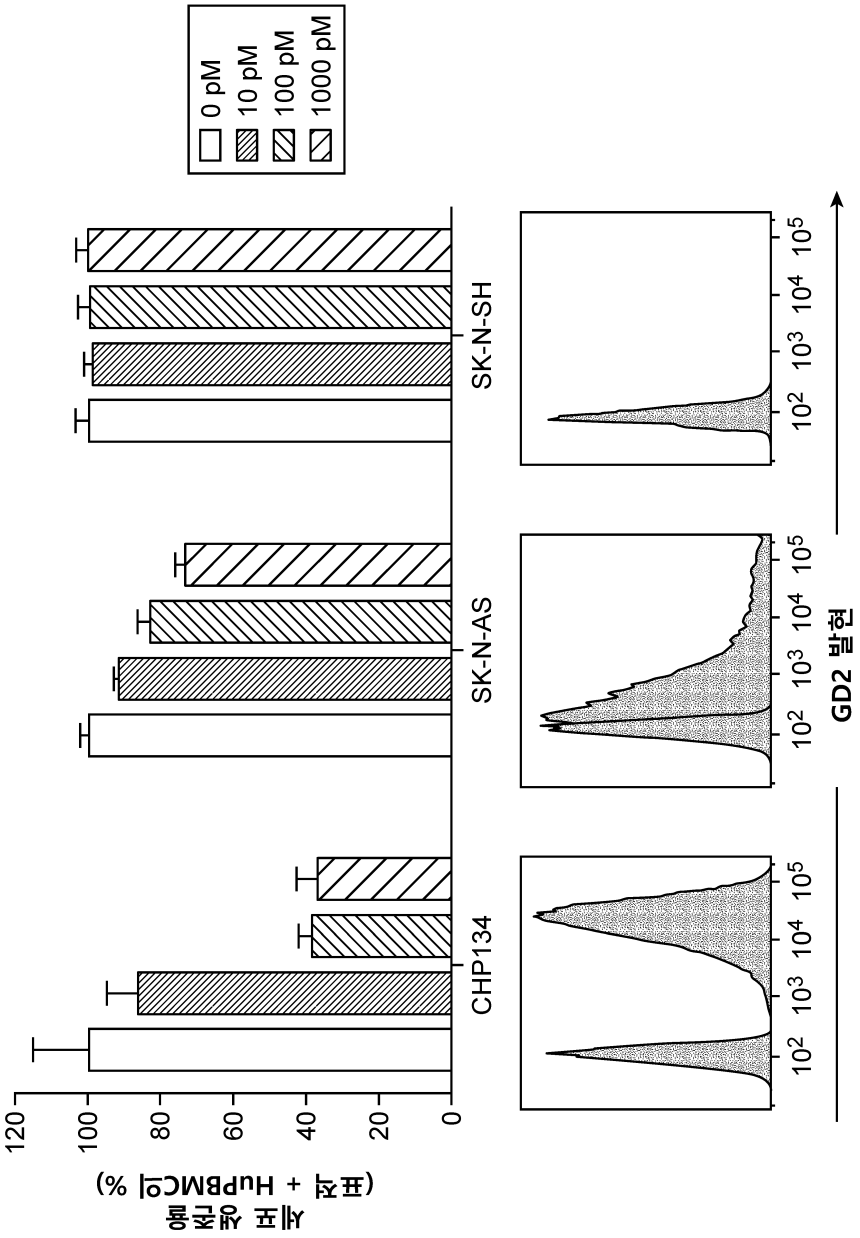
도면7


SK-N-Be(2)
CHP-134
SK-N-AS
모(Parental)
CD19+
GD2
표면 분자의 보간 #
SK-N-Be(2)
CHP-134
SK-N-AS
2.11×10^7
1.78×10^4
2.29×10^5
5.94×10^3
4.40×10^6
1.46×10^7

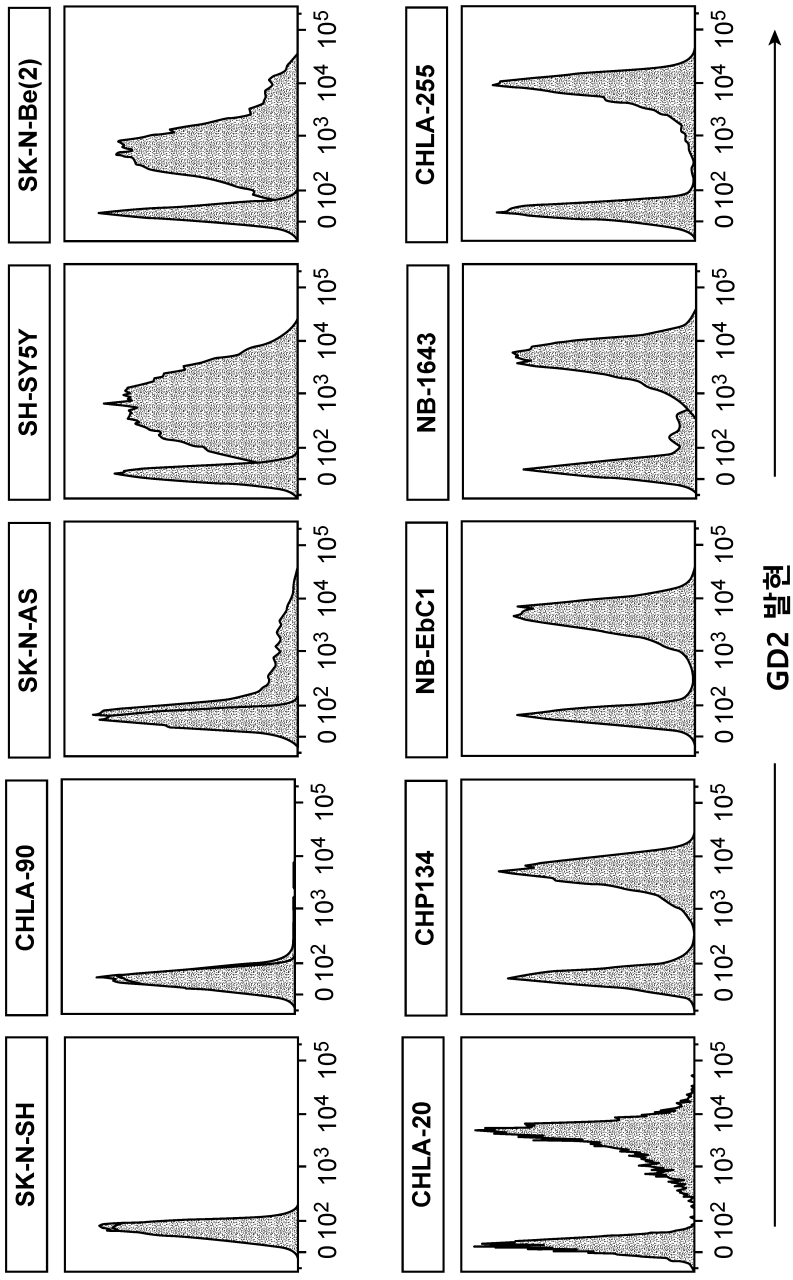
도면8


CHP134
SK-N-Be(2)
SK-N-AS
모 라인
(Parental line):
루시퍼라아제 라인
(Luciferase line):
GD2 (APC)
10^2
10^3
10^4
10^5

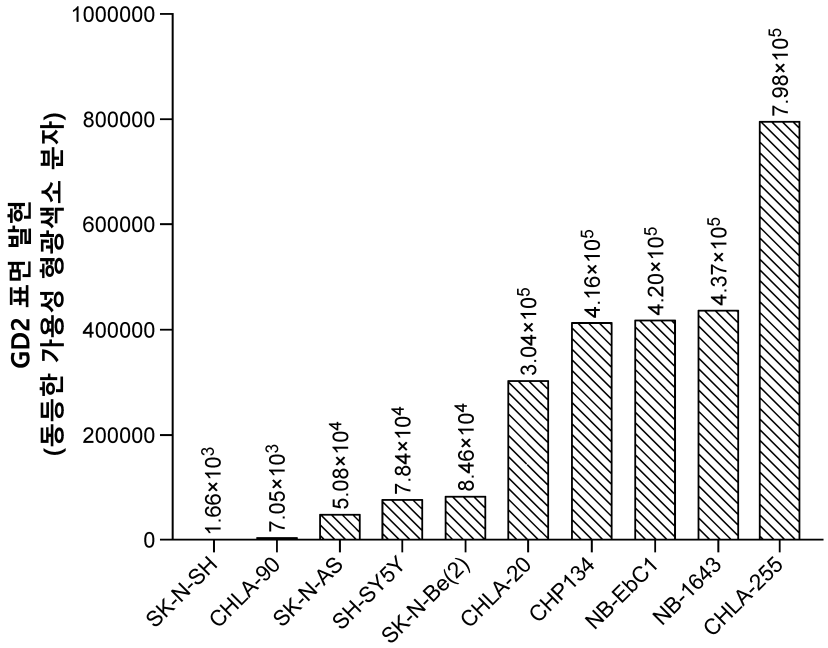
도면9


0 pM
10 pM
100 pM
1000 pM
세포 생존율
(표적 + HuPBMC의 %)
120
100
80
60
40
20
0
CHP134
SK-N-AS
SK-N-SH
GD2 발현
10^2
10^3
10^4
10^5

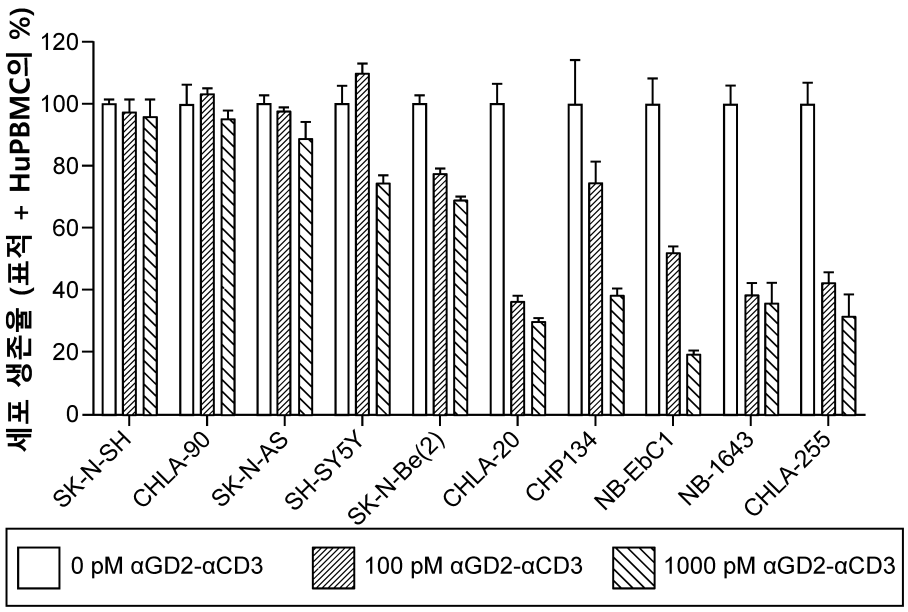
도면10a


SK-N-SH
CHLA-90
SK-N-AS
SH-SY5Y
SK-N-Be(2)
CHLA-20
CHP134
NB-EbC1
NB-1643
CHLA-255
0 10^2 10^3 10^4 10^5
GD2 발현

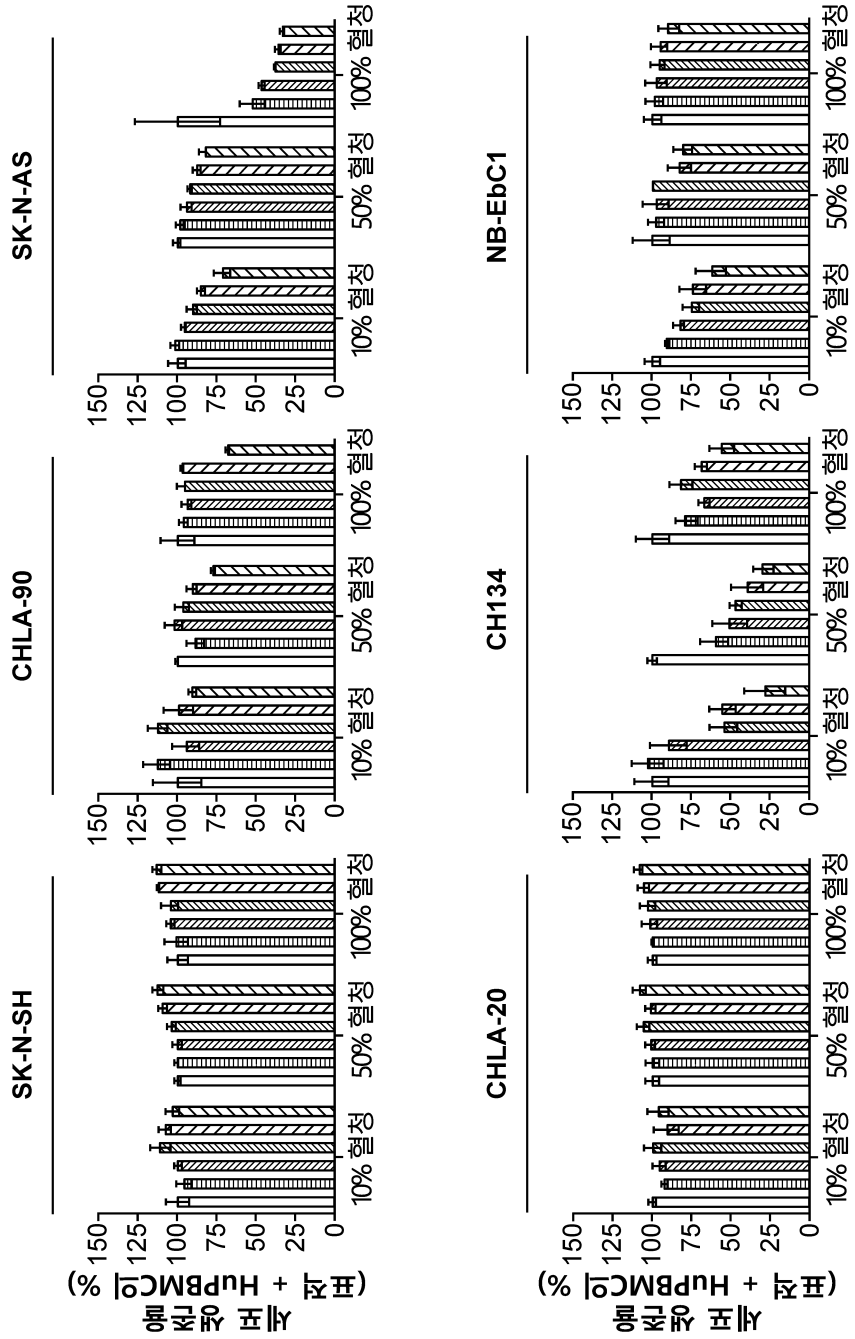
도면10b


GD2 표면 발현
(동등한 가용성 형광색소 분자)
1000000
800000
600000
400000
200000
0
1.66×10^3
7.05×10^3
5.08×10^4
7.84×10^4
8.46×10^4
3.04×10^5
4.16×10^5
4.20×10^5
4.37×10^5
7.98×10^5
SK-N-SH
CHLA-90
SK-N-AS
SH-SY5Y
SK-N-Be(2)
CHLA-20
CHP134
NB-EbC1
NB-1643
CHLA-255

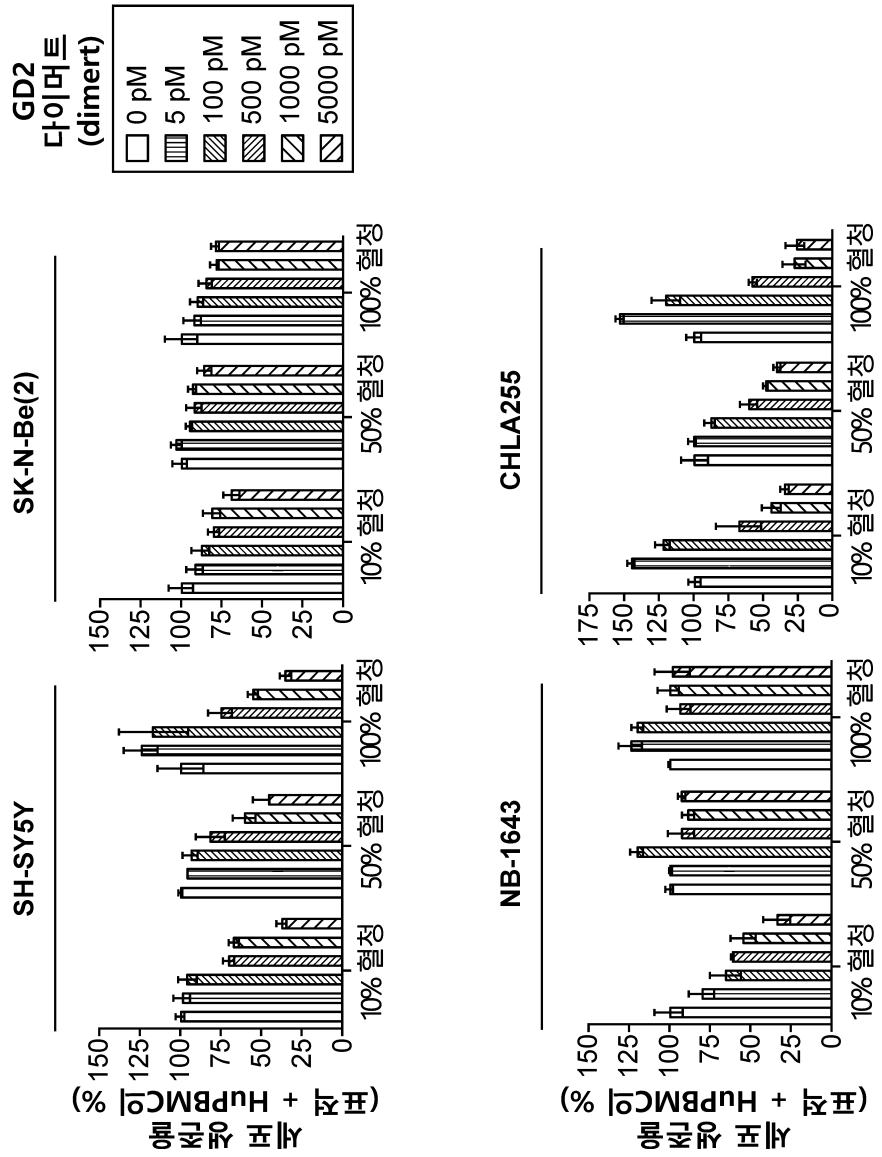
도면10c


세포 생존율 (표적 + HuPBMC의 %)
120
100
80
60
40
20
0
SK-N-SH
CHLA-90
SK-N-AS
SH-SY5Y
SK-N-Be(2)
CHLA-20
CHP134
NB-EbC1
NB-1643
CHLA-255
0 pM αGD2-αCD3
100 pM αGD2-αCD3
1000 pM αGD2-αCD3

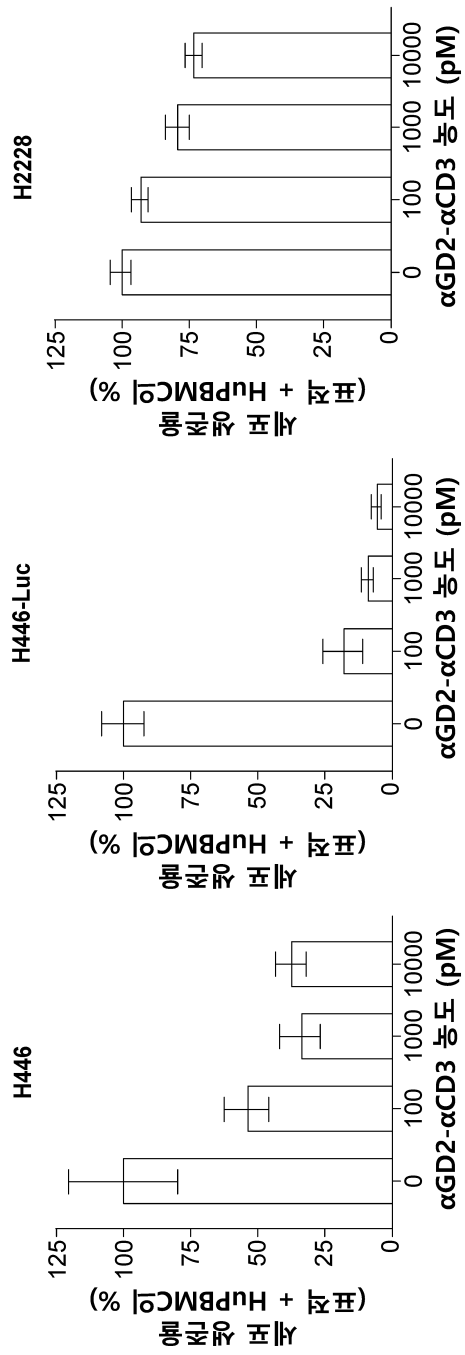
도면11a


SK-N-SH
CHLA-90
SK-N-AS
CHLA-20
CH134
NB-EbC1
세포 생존율
(표적 + HuPBMC의 %)
150
125
100
75
50
25
0
10% 혈청
50% 혈청
100% 혈청

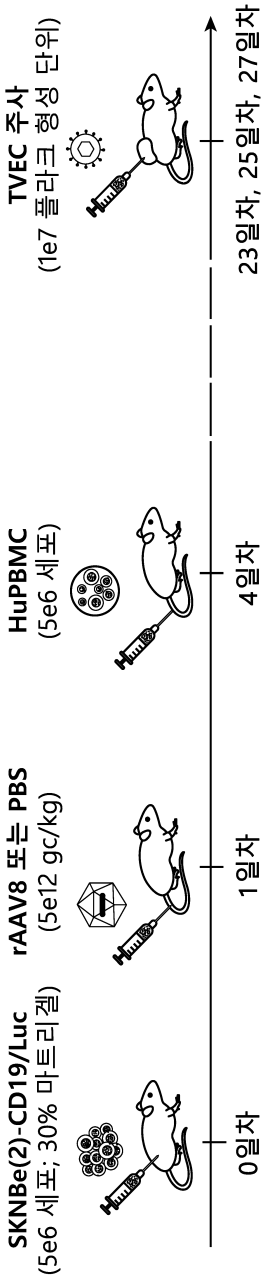
도면11b


GD2 다이머트 (dimert)
0 pM
5 pM
100 pM
500 pM
1000 pM
5000 pM
SH-SY5Y
SK-N-Be(2)
NB-1643
CHLA255
세포 생존율 (표적 + HuPBMC의 %)
10% 혈청
50% 혈청
100% 혈청

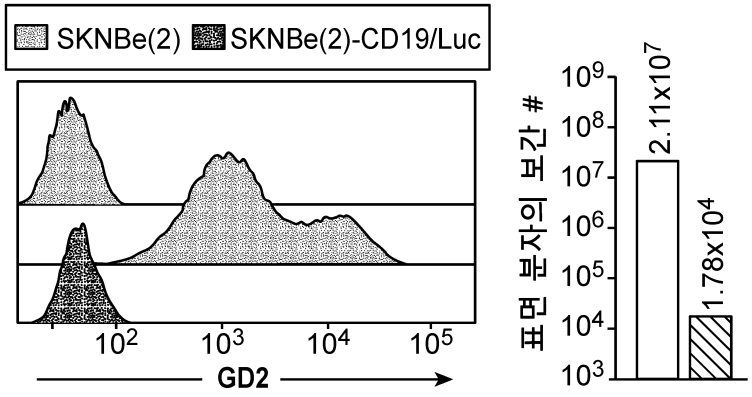
도면12


H446
H446-Luc
H2228
세포 생존율
(표적 + HuPBMC의 %)
0
25
50
75
100
125
0
100
1000
10000
αGD2-αCD3 농도 (pM)

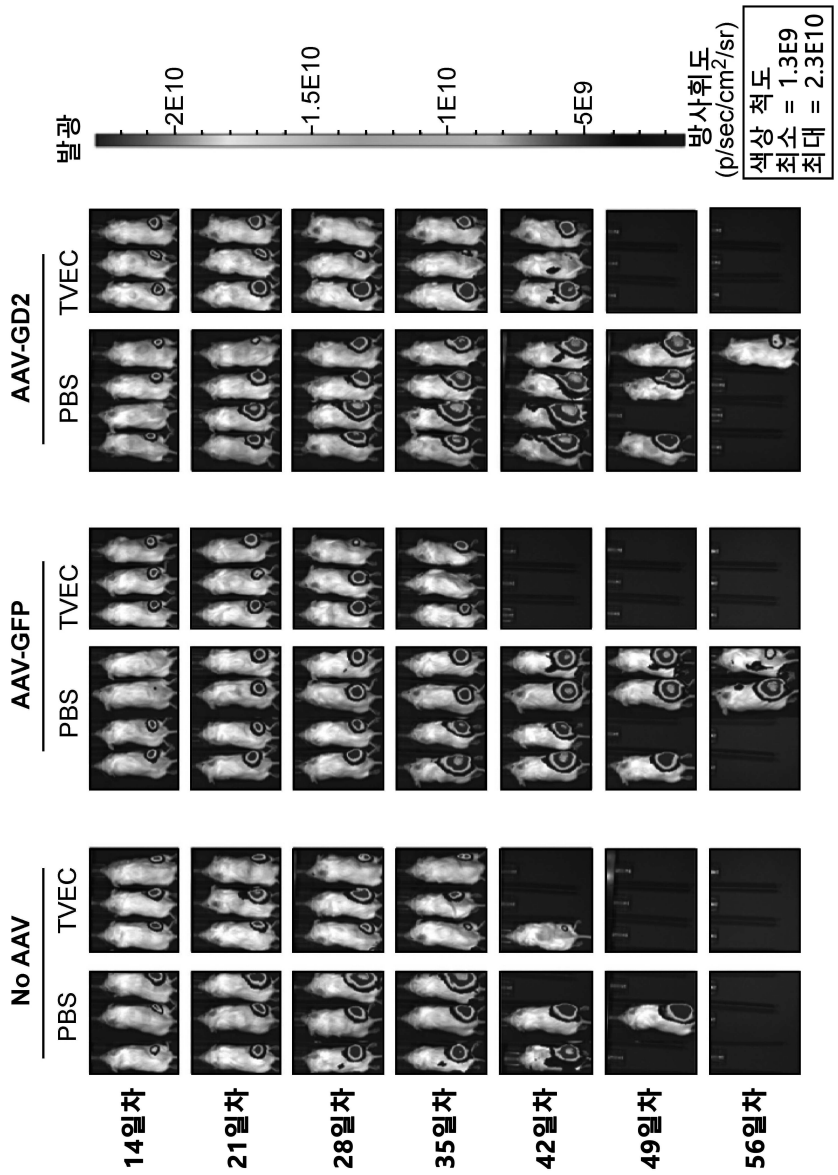
도면13a


SKNBe(2)-CD19/Luc
(5e6 세포; 30% 마트리겔)
rAAV8 또는 PBS
(5e12 gc/kg)
HuPBMC
(5e6 세포)
TVEC 주사
(1e7 플라크 형성 단위)
0일차
1일차
4일차
23일차, 25일차, 27일차

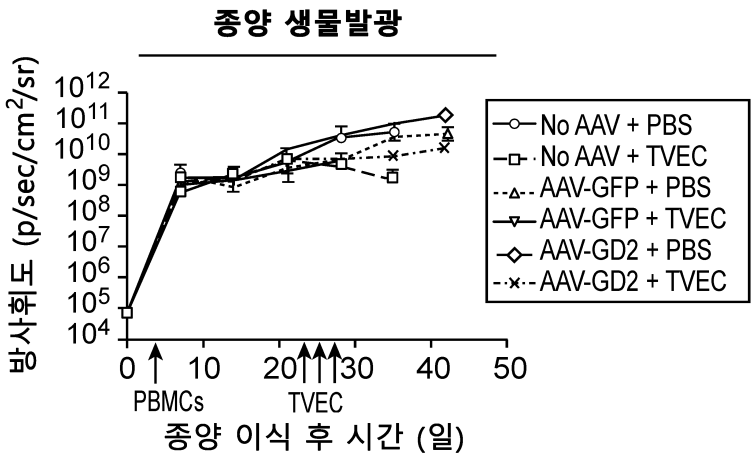
도면13b


SKNBe(2)
SKNBe(2)-CD19/Luc
GD2
표면 분자의 보간 #
2.11x10^7
1.78x10^4

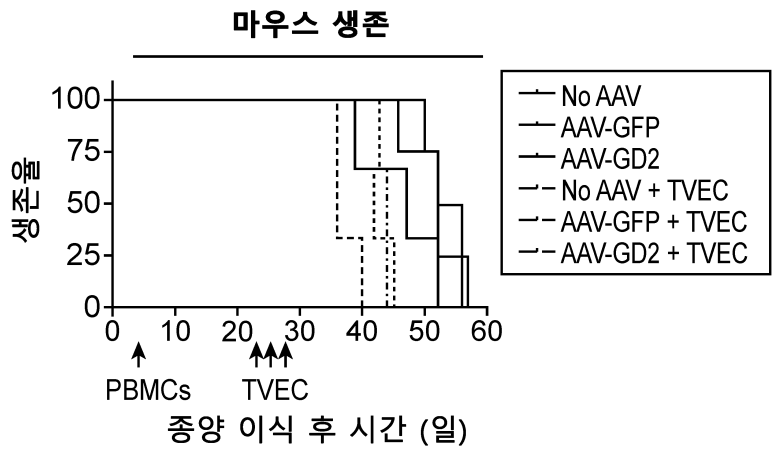
도면13c


발광
2E10
1.5E10
1E10
5E9
방사휘도
(p/sec/cm²/sr)
색상 척도
최소 = 1.3E9
최대 = 2.3E10
AAV-GD2
TVEC
PBS
AAV-GFP
TVEC
PBS
No AAV
TVEC
PBS
14일차
21일차
28일차
35일차
42일차
49일차
56일차

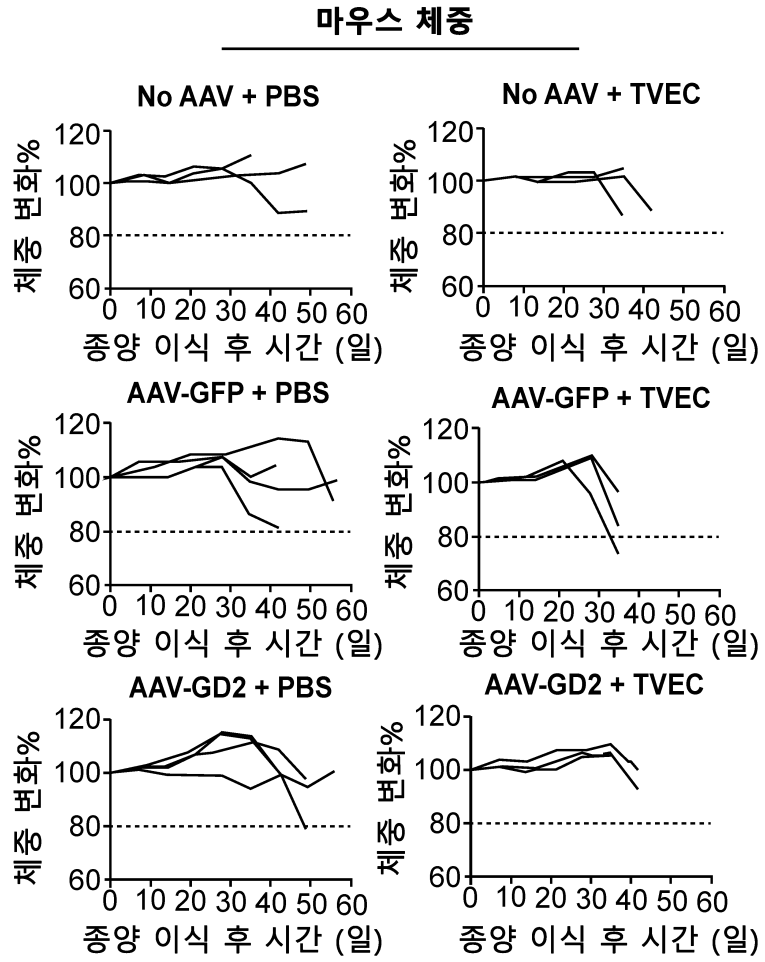
도면13d


종양 생물발광
방사휘도 (p/sec/cm²/sr)
10¹²
10¹¹
10¹⁰
10⁹
10⁸
10⁷
10⁶
10⁵
10⁴
0
10
20
30
40
50
PBMCs
TVEC
종양 이식 후 시간 (일)
No AAV + PBS
No AAV + TVEC
AAV-GFP + PBS
AAV-GFP + TVEC
AAV-GD2 + PBS
AAV-GD2 + TVEC

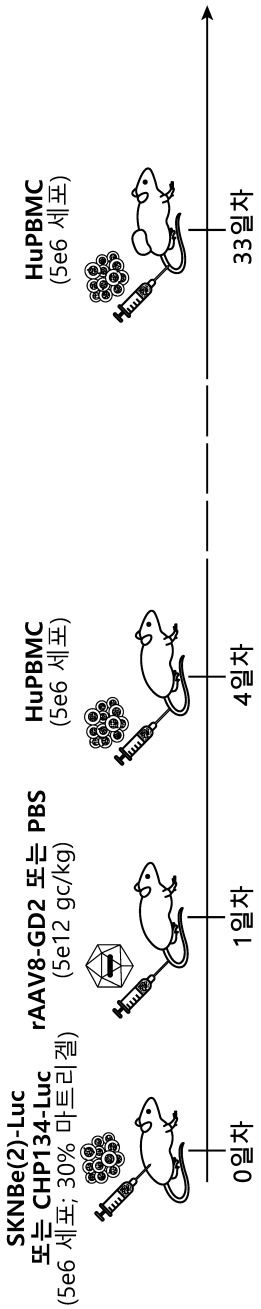
도면13e


마우스 생존
생존율
100
75
50
25
0
0 10 20 30 40 50 60
PBMCs
TVEC
종양 이식 후 시간 (일)
No AAV
AAV-GFP
AAV-GD2
No AAV + TVEC
AAV-GFP + TVEC
AAV-GD2 + TVEC

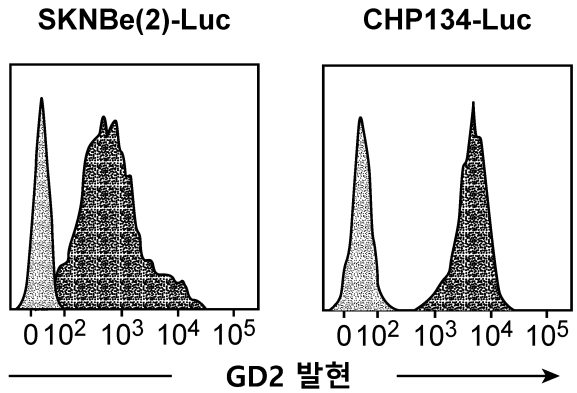
도면13f


마우스 체중
No AAV + PBS
No AAV + TVEC
AAV-GFP + PBS
AAV-GFP + TVEC
AAV-GD2 + PBS
AAV-GD2 + TVEC
체중 변화%
120
100
80
60
0 10 20 30 40 50 60
종양 이식 후 시간 (일)

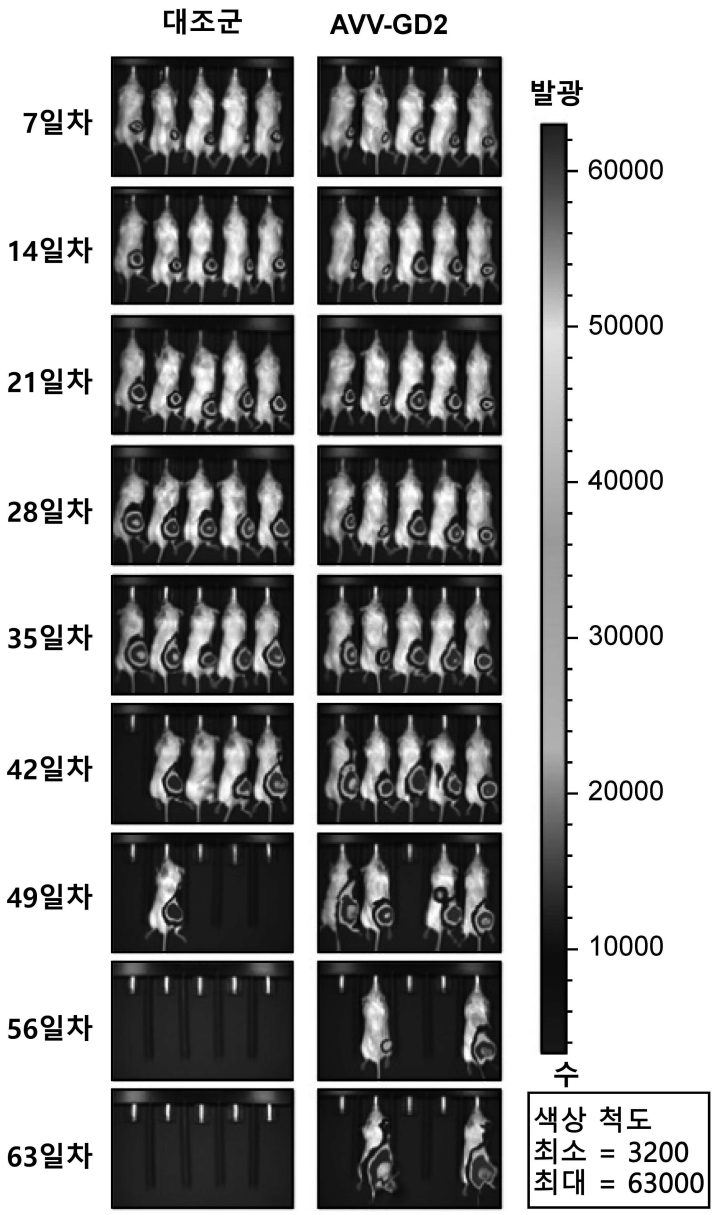
도면14a


SKNBe(2)-Luc
또는 CHP134-Luc
(5e6 세포; 30% 마트리겔)
0일차
rAAV8-GD2 또는 PBS
(5e12 gc/kg)
1일차
HuPBMC
(5e6 세포)
4일차
HuPBMC
(5e6 세포)
33일차

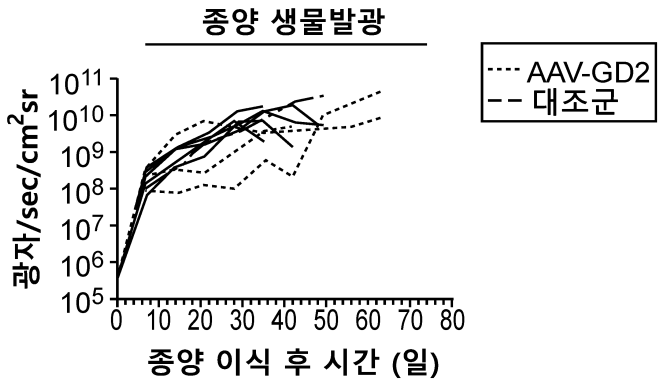
도면14b


SKNBe(2)-Luc
CHP134-Luc
0 10² 10³ 10⁴ 10⁵
0 10² 10³ 10⁴ 10⁵
GD2 발현

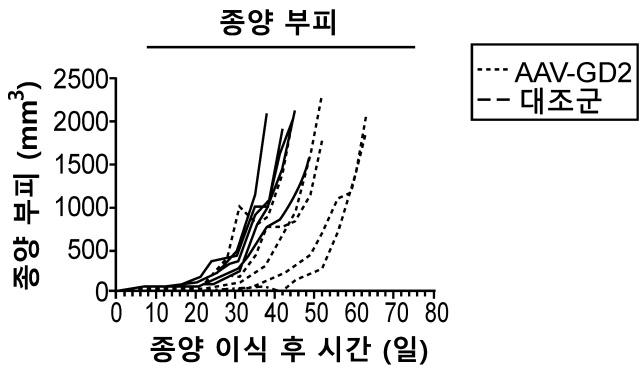
도면14c


대조군
AVV-GD2
7일차
14일차
21일차
28일차
35일차
42일차
49일차
56일차
63일차
발광
60000
50000
40000
30000
20000
10000
수
색상 척도
최소 = 3200
최대 = 63000

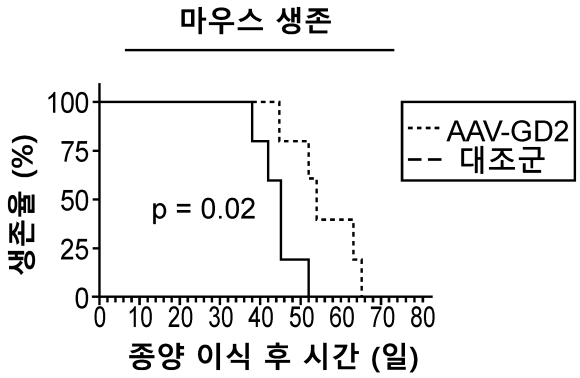
도면14d


종양 생물발광
AAV-GD2
대조군
광자/sec/cm2sr
10^11
10^10
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
0 10 20 30 40 50 60 70 80
종양 이식 후 시간 (일)

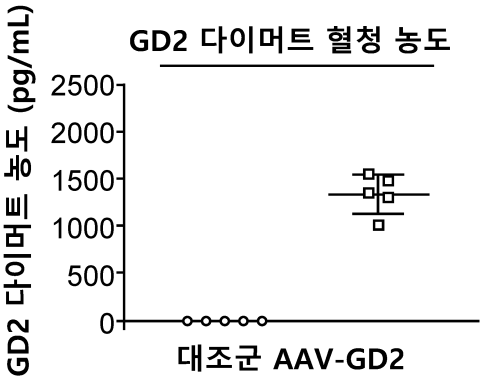
도면14e



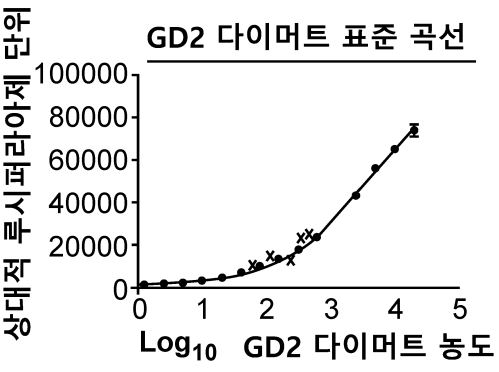
도면14f



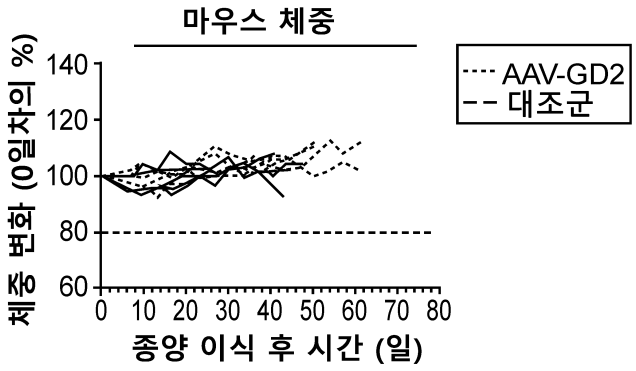
도면14g



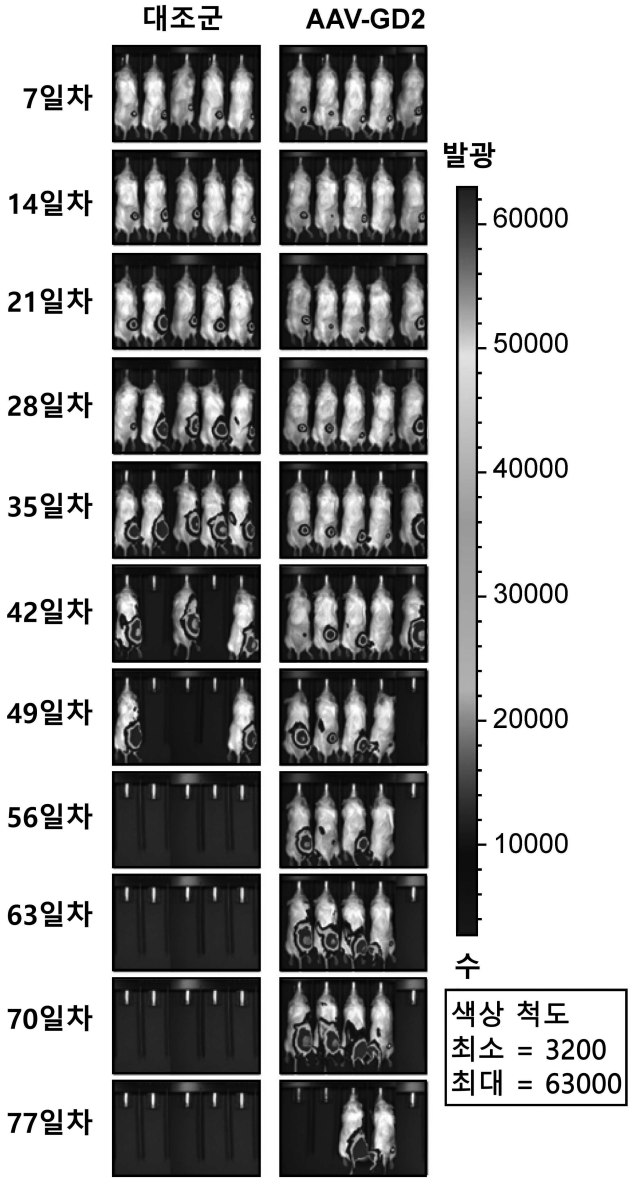
도면14h



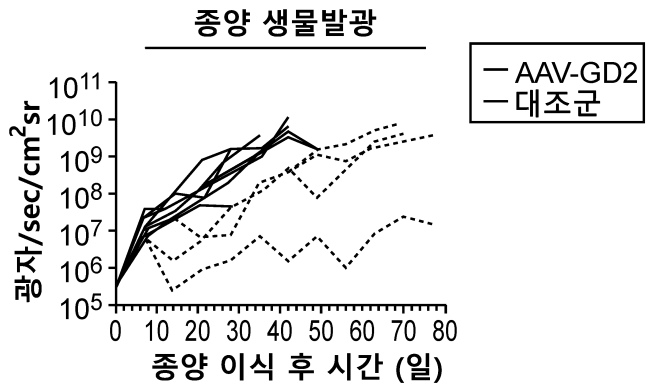
도면14i


마우스 체중
체중 변화 (0일차의 %)
140
120
100
80
60
0 10 20 30 40 50 60 70 80
종양 이식 후 시간 (일)
AAV-GD2
대조군

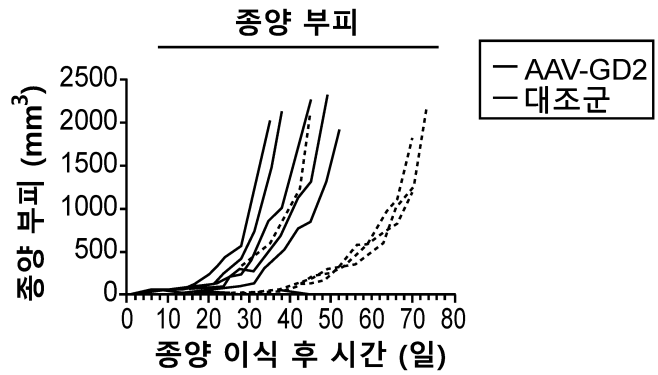
도면14j


대조군
AAV-GD2
7일차
14일차
21일차
28일차
35일차
42일차
49일차
56일차
63일차
70일차
77일차
발광
60000
50000
40000
30000
20000
10000
수
색상 척도
최소 = 3200
최대 = 63000

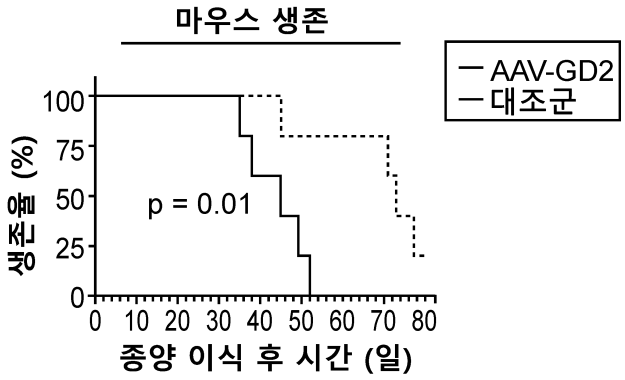
도면14k



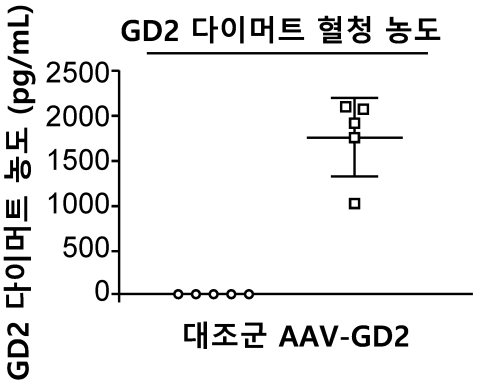
도면14l



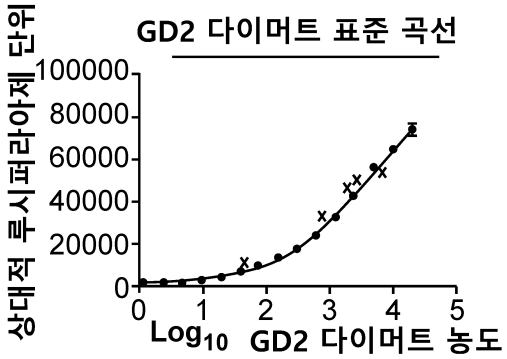
도면14m



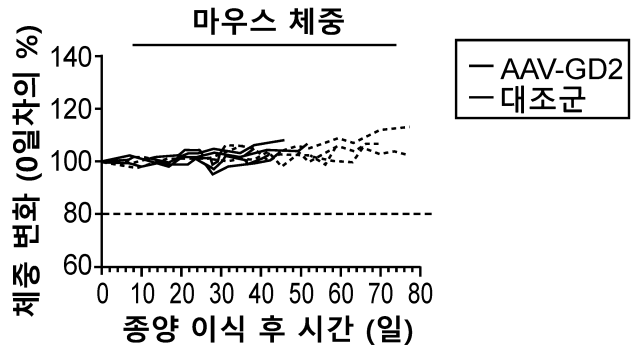
도면14n



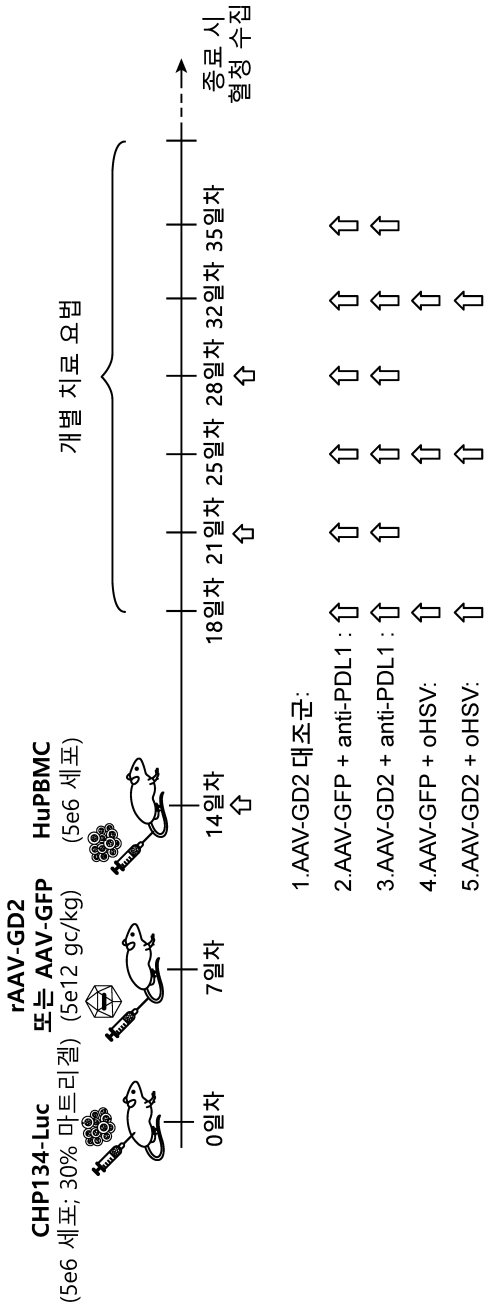
도면14o



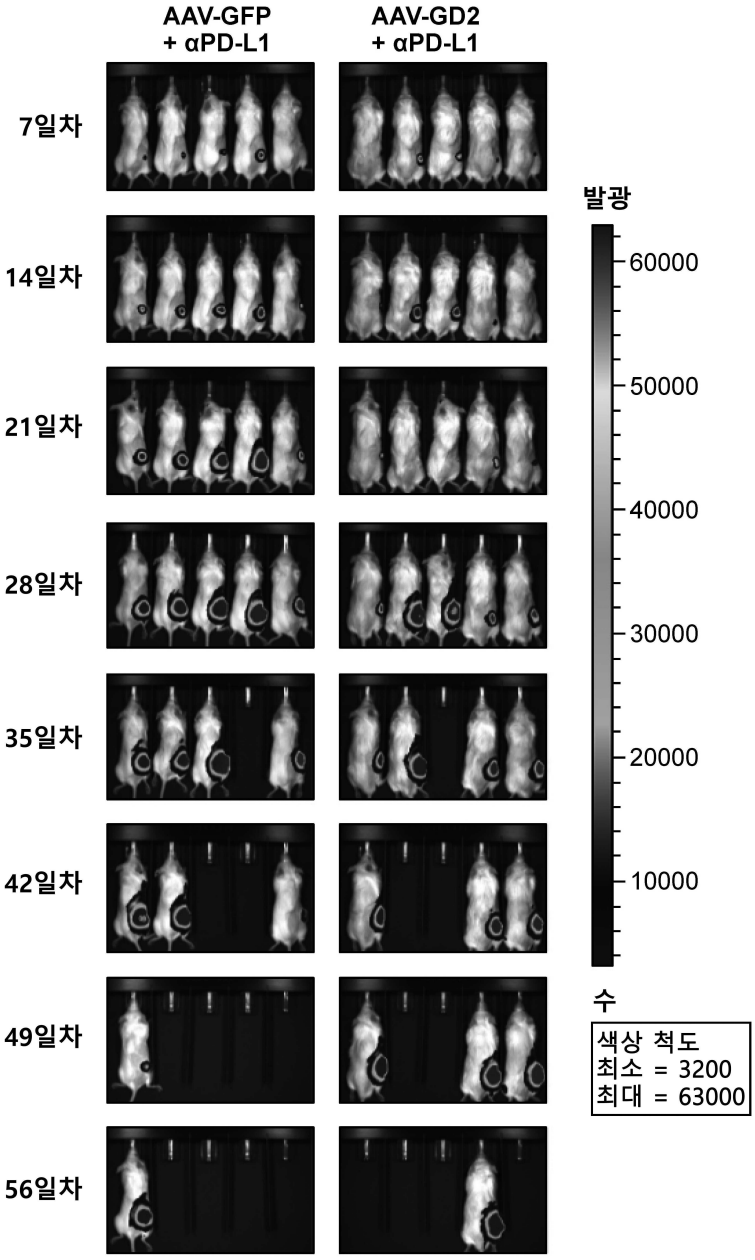
도면14p



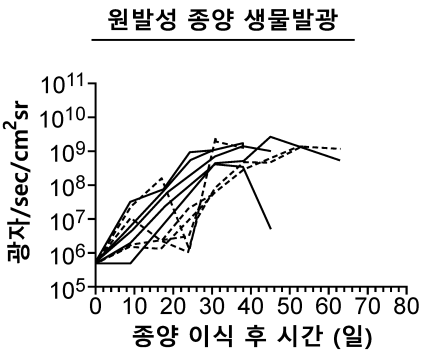
도면15a


CHP134-Luc
(5e6 세포; 30% 마트리겔)
rAAV-GD2
또는 AAV-GFP
(5e12 gc/kg)
HuPBMC
(5e6 세포)
개별 치료 요법
0일차
7일차
14일차
18일차
21일차
25일차
28일차
32일차
35일차
종료 시
혈청 수집
1.AAV-GD2 대조군:
2.AAV-GFP + anti-PDL1 :
3.AAV-GD2 + anti-PDL1 :
4.AAV-GFP + oHSV:
5.AAV-GD2 + oHSV:

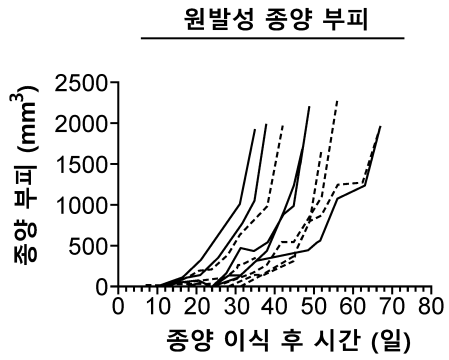
도면15b


AAV-GFP
+ αPD-L1
AAV-GD2
+ αPD-L1
7일차
14일차
21일차
28일차
35일차
42일차
49일차
56일차
발광
60000
50000
40000
30000
20000
10000
수
색상 척도
최소 = 3200
최대 = 63000

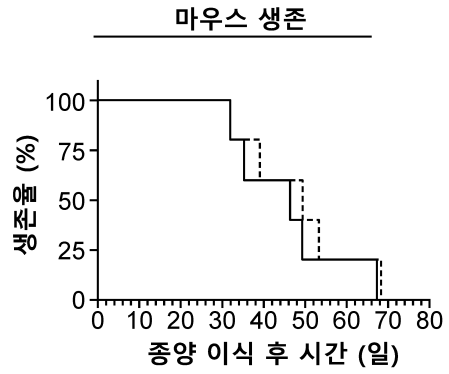
도면15c


원발성 종양 생물발광
광자/sec/cm2sr
10^11
10^10
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
0 10 20 30 40 50 60 70 80
종양 이식 후 시간 (일)

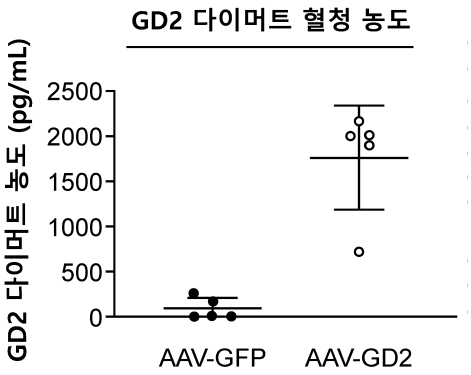
도면15d



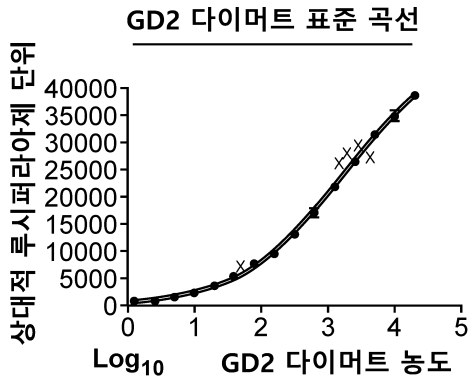
도면15e



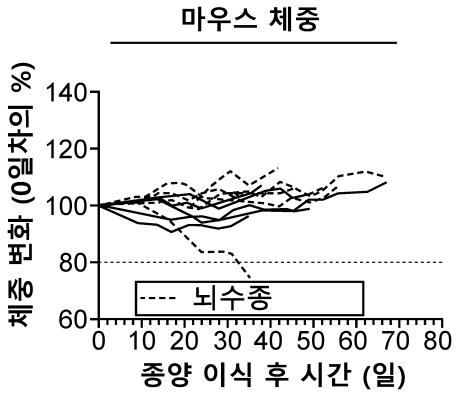
도면15f



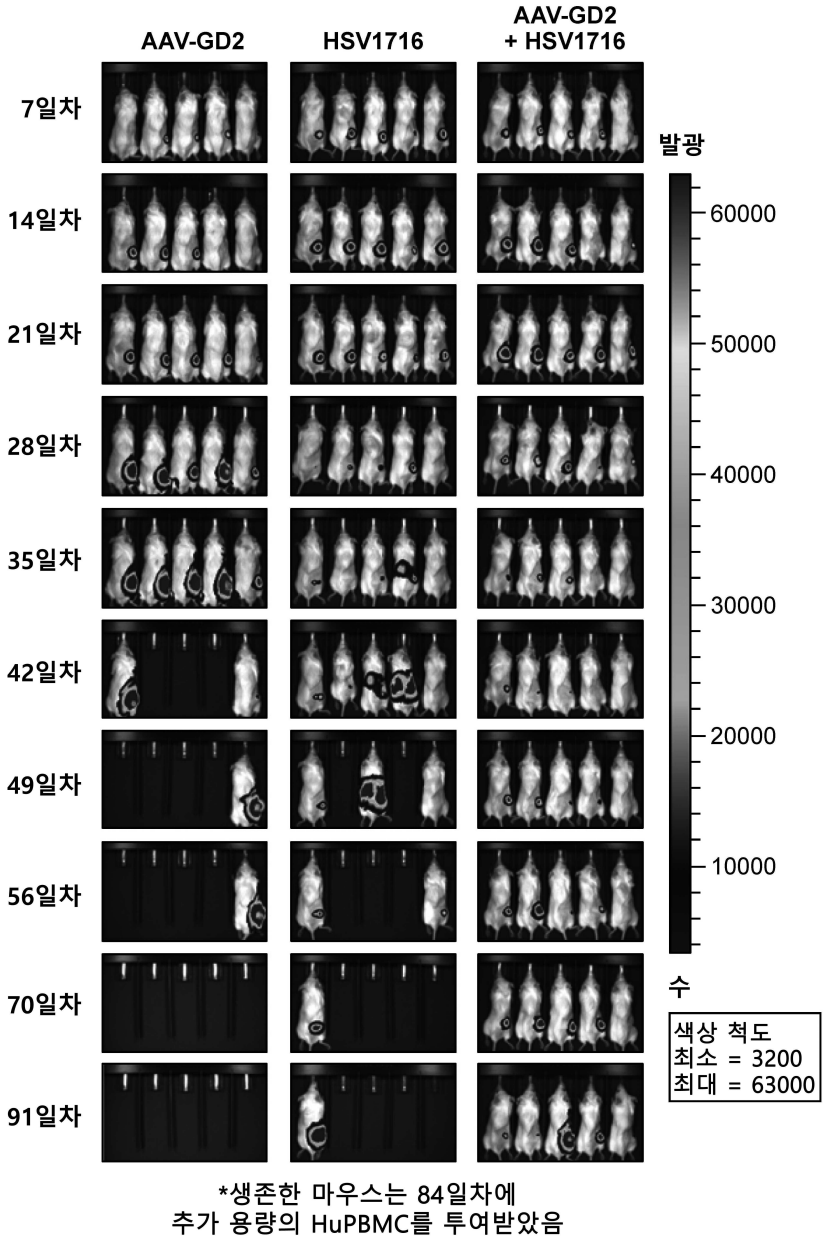
도면15g



도면15h

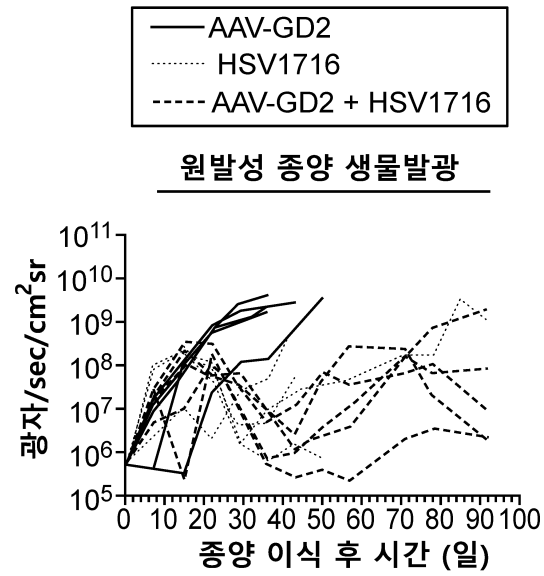


도면15i

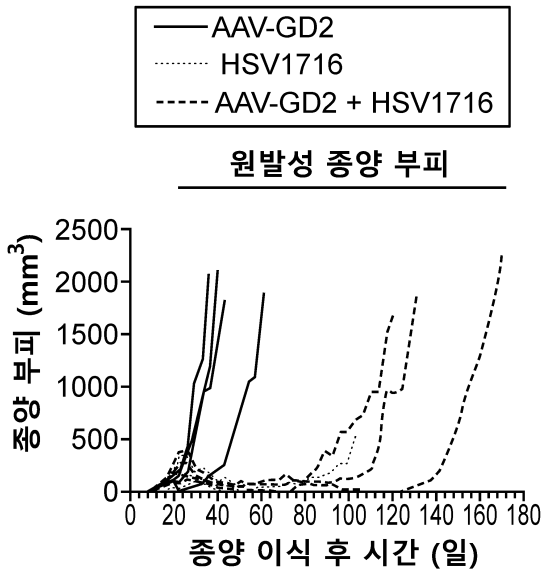


*생존한 마우스는 84일차에
추가 용량의 HuPBMC를 투여받았음

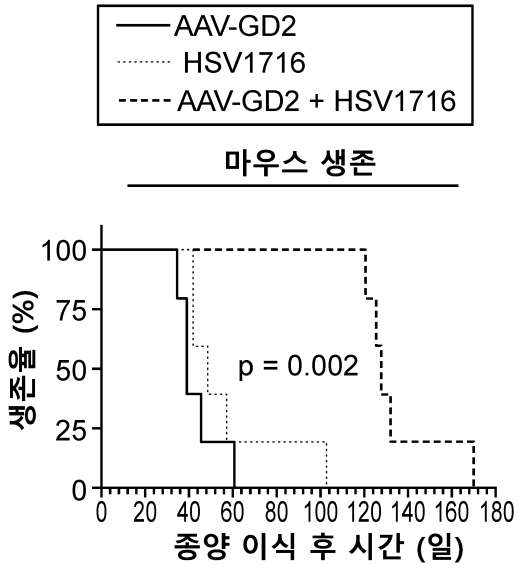
도면15j


AAV-GD2
HSV1716
AAV-GD2 + HSV1716
원발성 종양 생물발광
광자/sec/cm2sr
10^11
10^10
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
종양 이식 후 시간 (일)

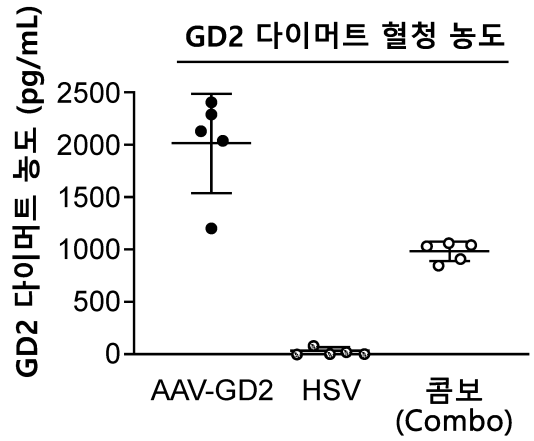
도면15k


AAV-GD2
HSV1716
AAV-GD2 + HSV1716
원발성 종양 부피
종양 부피 (mm3)
2500
2000
1500
1000
500
0
0 20 40 60 80 100 120 140 160 180
종양 이식 후 시간 (일)

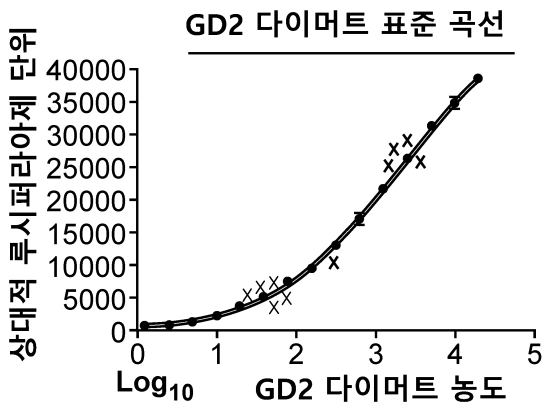
도면151



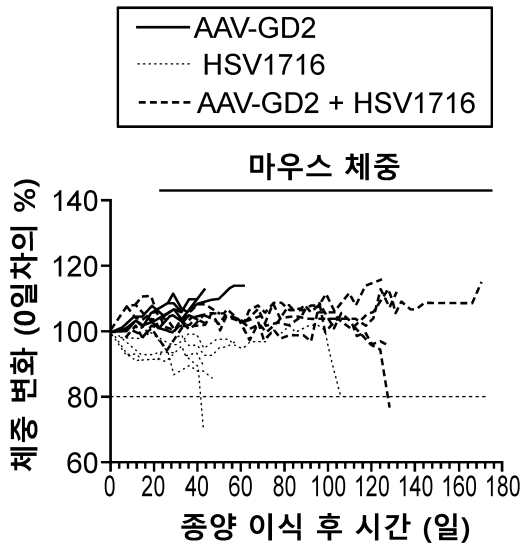
도면15m



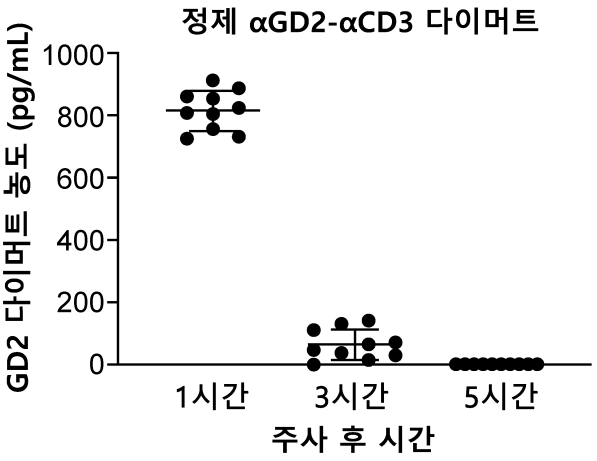
도면15n



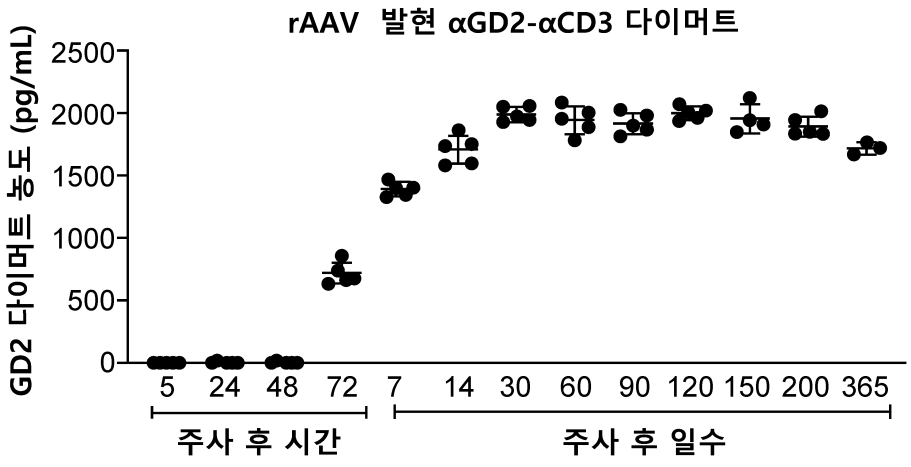
도면15o



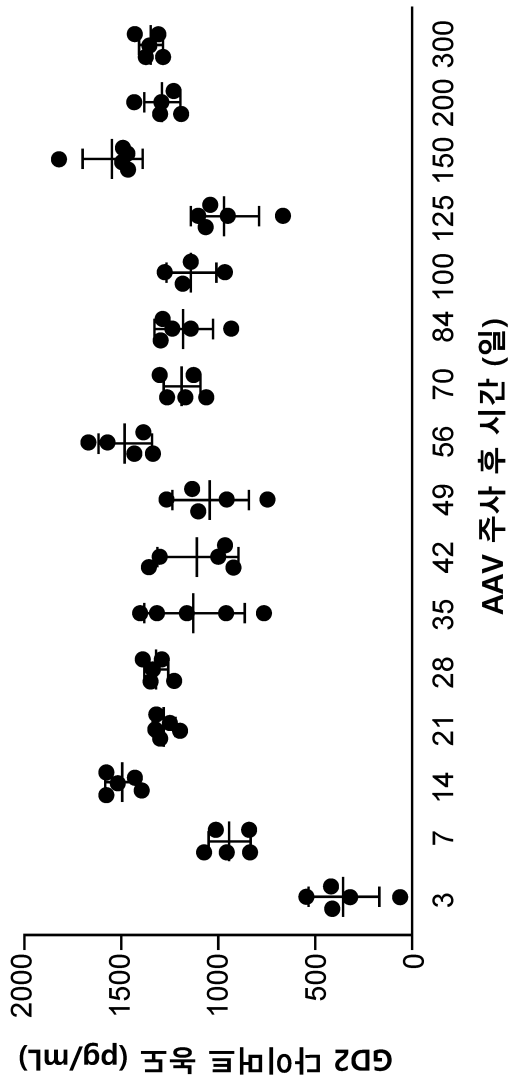
도면16a



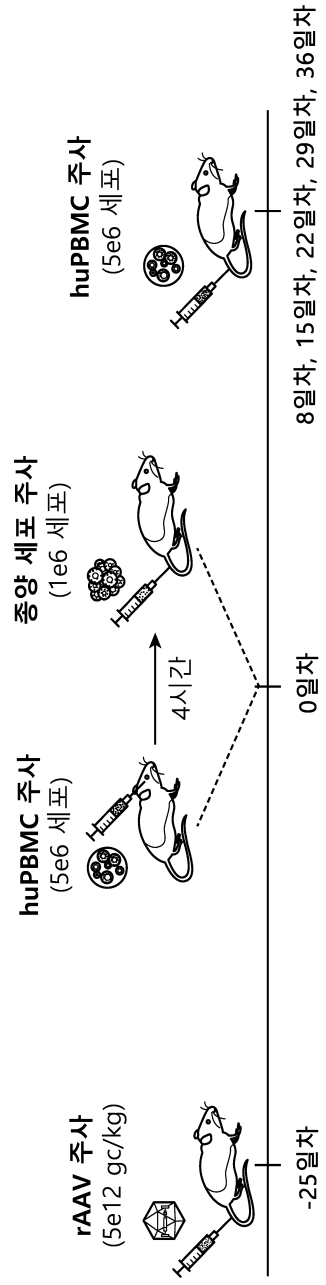
도면16b



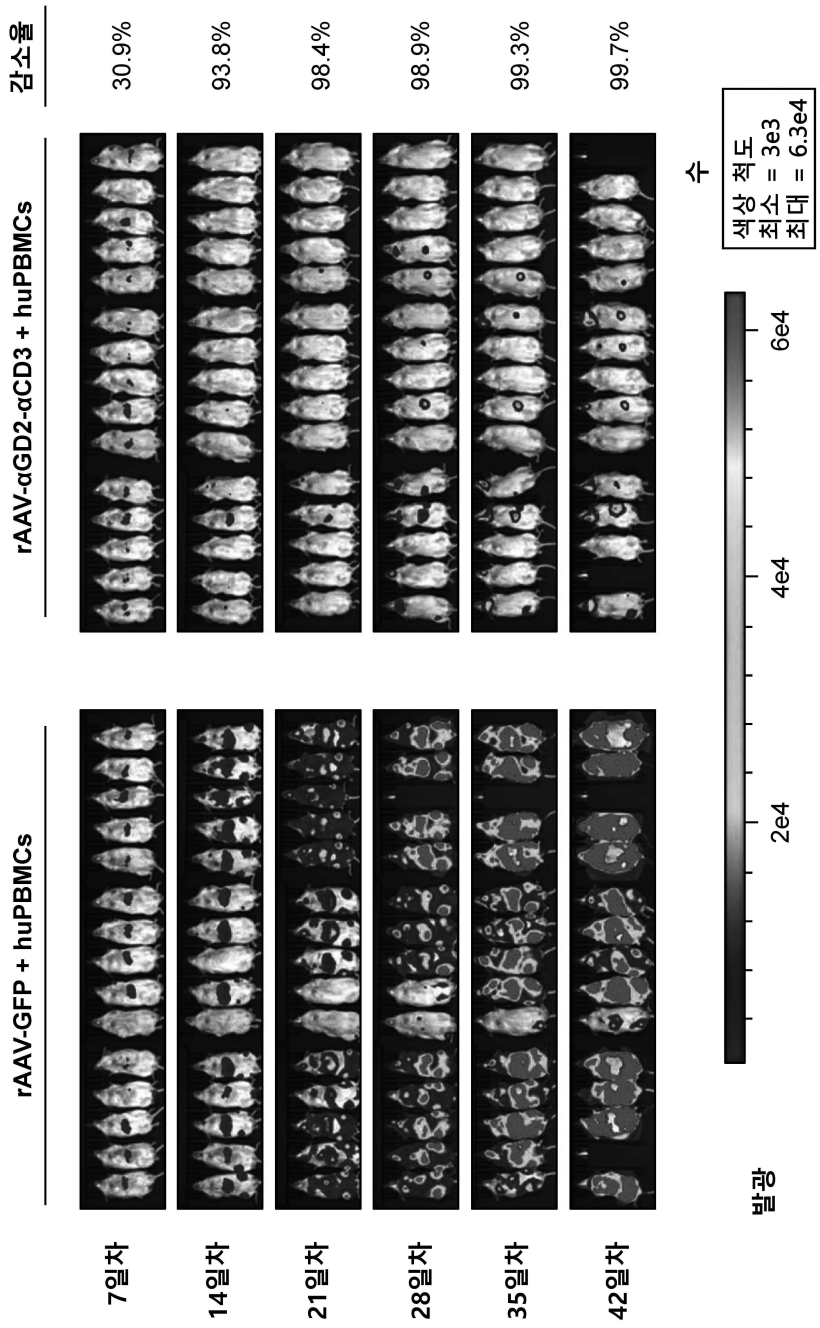
도면17


GD2 다이머 농도 (pg/mL)
2000
1500
1000
500
0
3
7
14
21
28
35
42
49
56
70
84
100
125
150
200
300
AAV 주사 후 시간 (일)

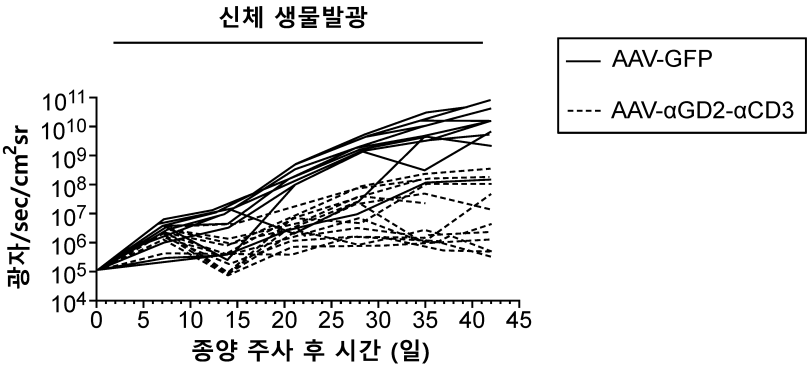
도면18a


rAAV 주사
(5e12 gc/kg)
-25일차
huPBMC 주사
(5e6 세포)
4시간
종양 세포 주사
(1e6 세포)
0일차
huPBMC 주사
(5e6 세포)
8일차, 15일차, 22일차, 29일차, 36일차

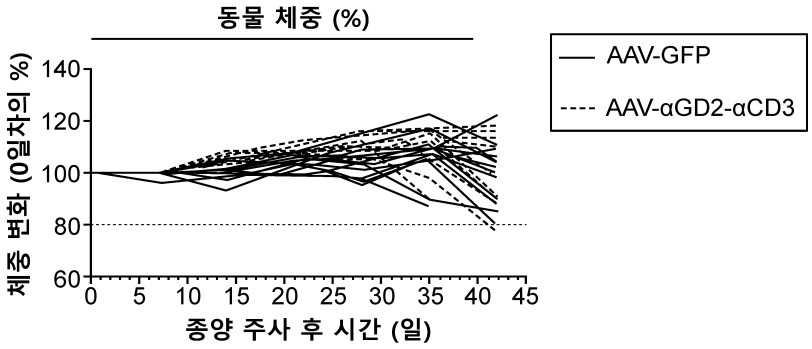
도면18b


감소율
30.9%
93.8%
98.4%
98.9%
99.3%
99.7%
rAAV-αGD2-αCD3 + huPBMCs
rAAV-GFP + huPBMCs
수
색상 척도
최소 = 3e3
최대 = 6.3e4
6e4
4e4
2e4
발광
7일차
14일차
21일차
28일차
35일차
42일차

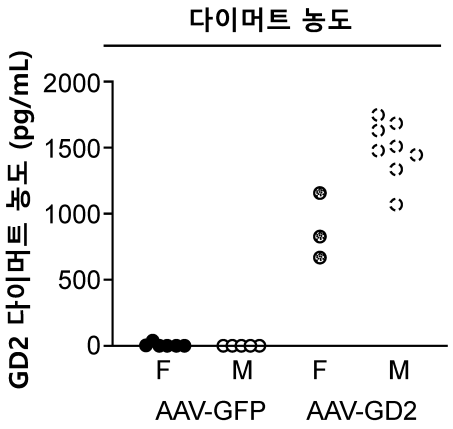
도면18c


신체 생물발광
AAV-GFP
AAV-αGD2-αCD3
광자/sec/cm2sr
10^11
10^10
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
10^4
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45
종양 주사 후 시간 (일)

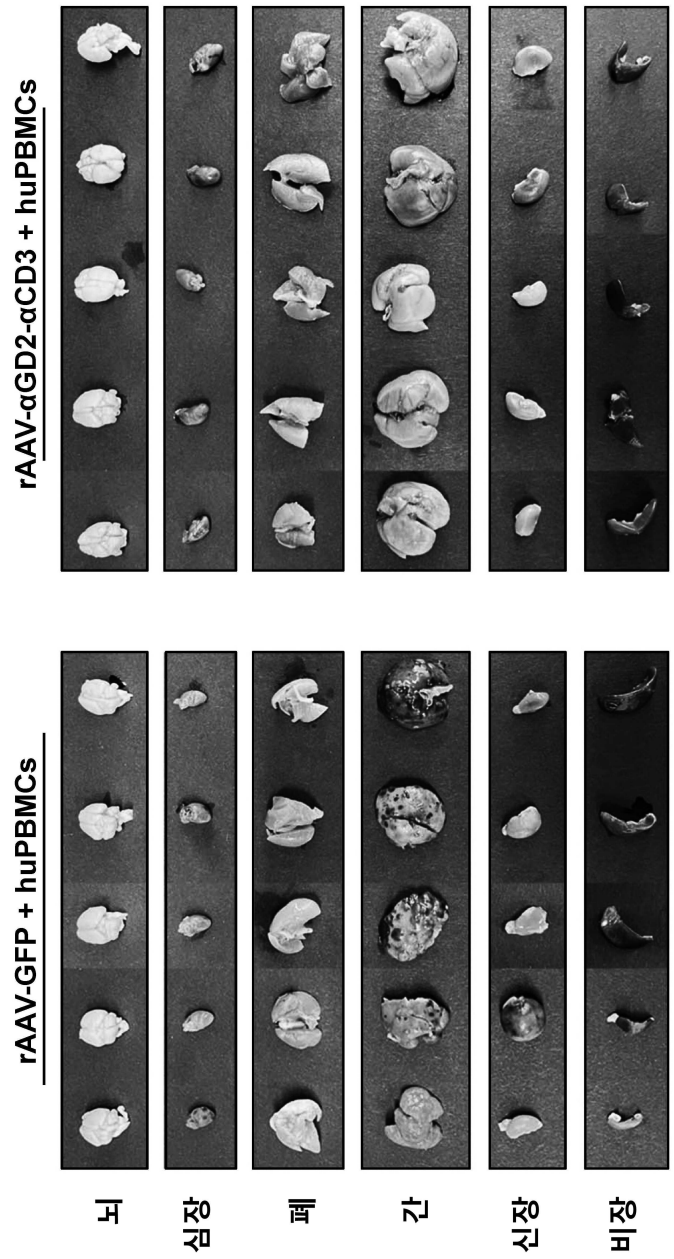
도면18d


동물 체중 (%)
체중 변화 (0일차의 %)
140
120
100
80
60
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
종양 주사 후 시간 (일)
AAV-GFP
AAV-αGD2-αCD3

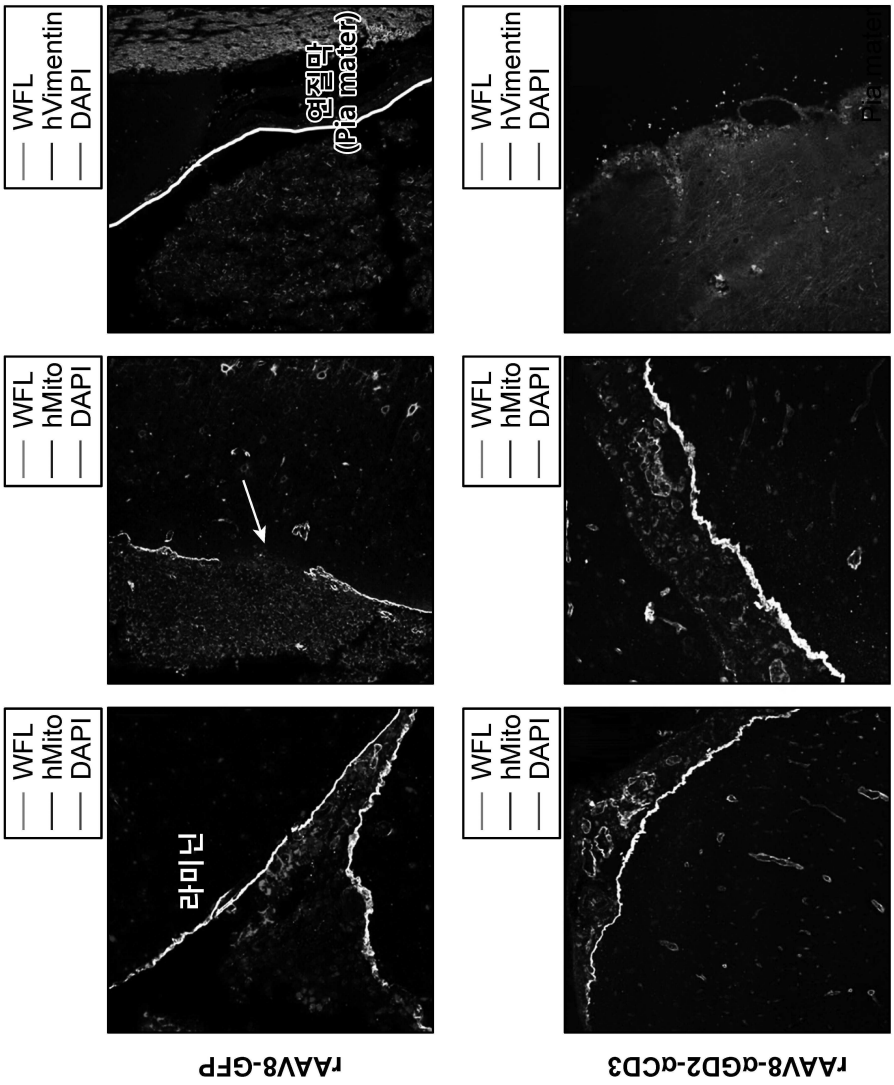
도면18e


다이머트 농도
GD2 다이머트 농도 (pg/mL)
2000
1500
1000
500
0
F
M
F
M
AAV-GFP
AAV-GD2

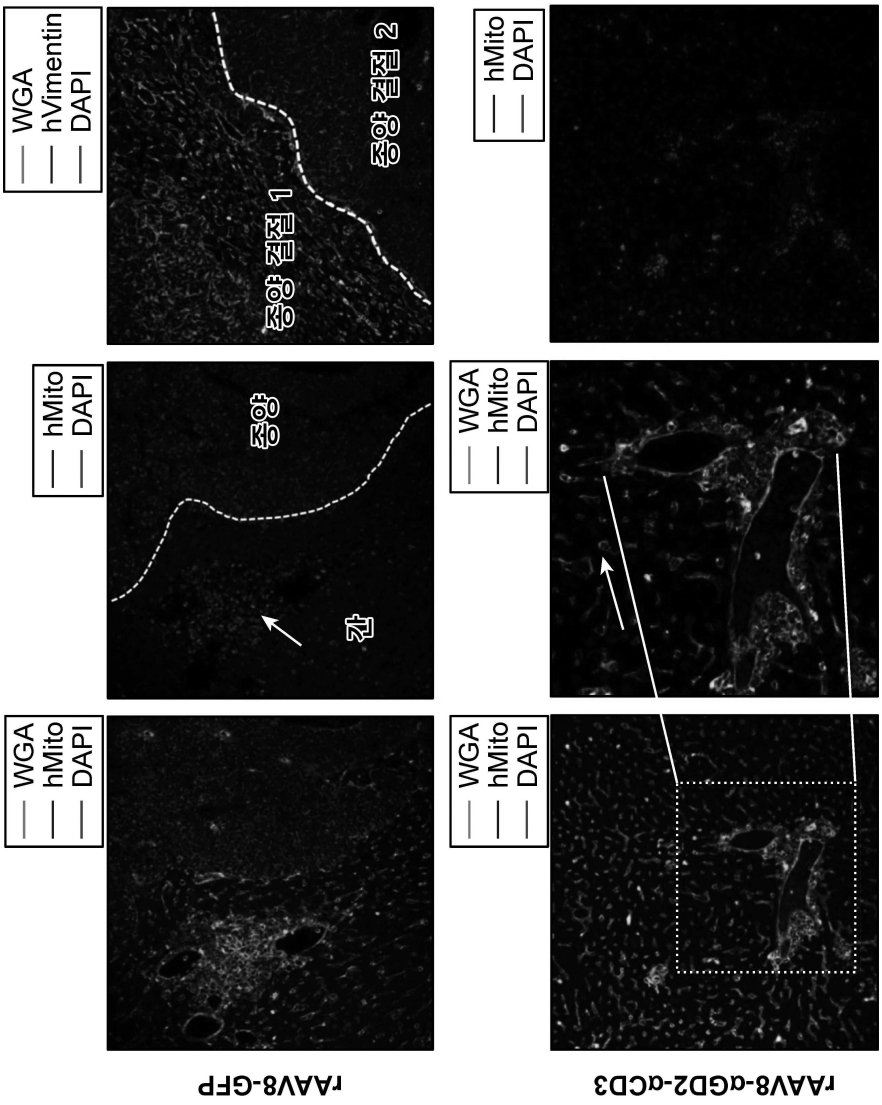
도면18f



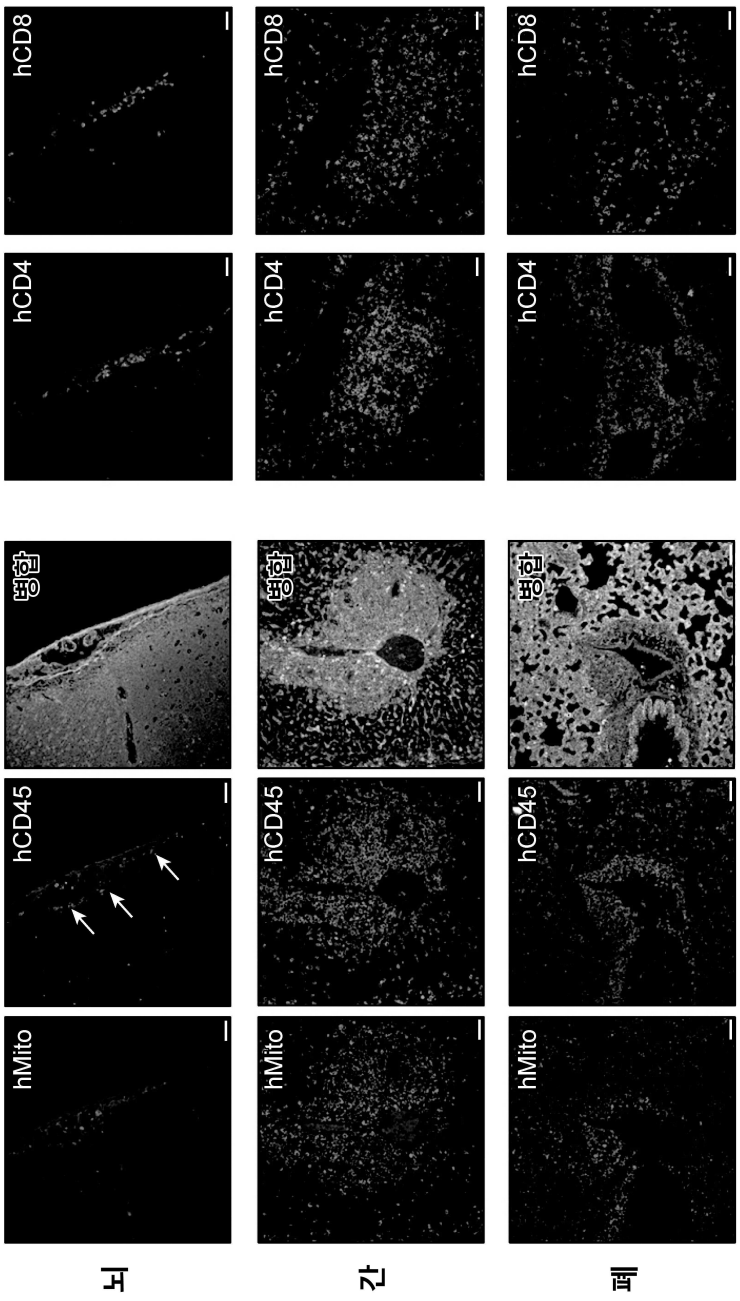
도면18g


WFL
hVimentin
DAPI
WFL
hMito
DAPI
WFL
hMito
DAPI
엽질막
(Pia mater)
라미닌
rAAV8-GFP
rAAV8-αGD2-αCD3

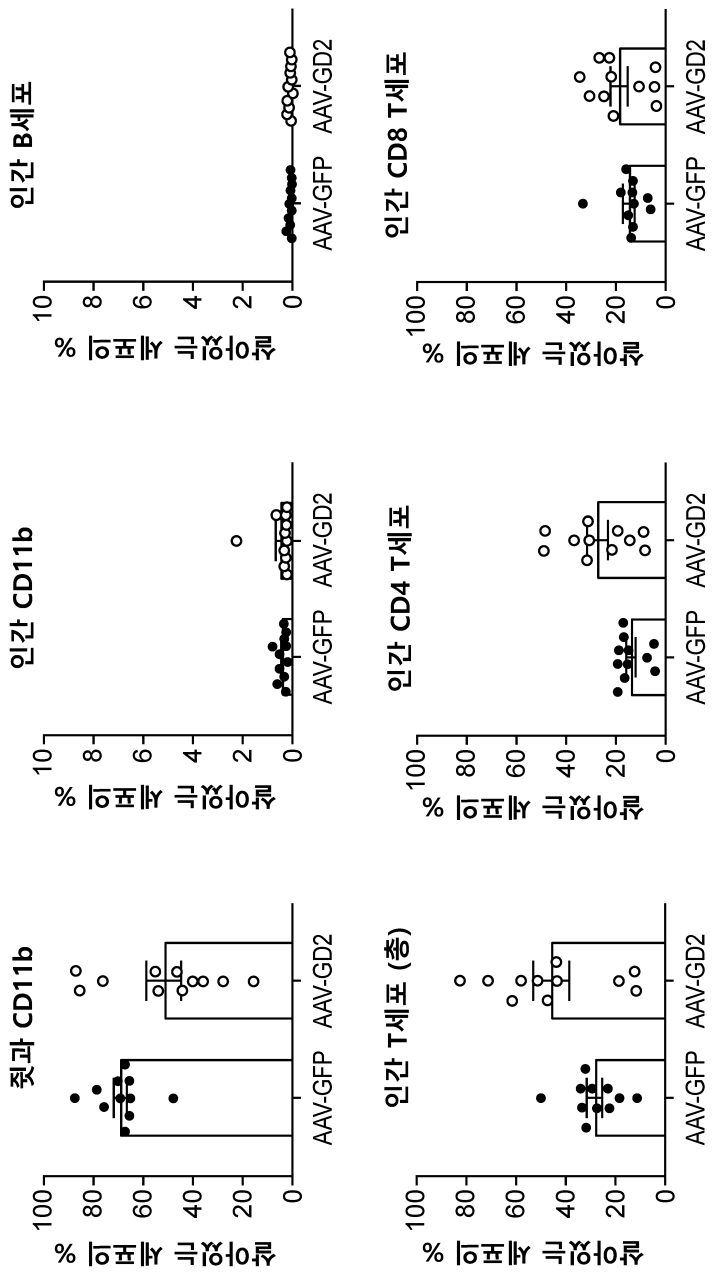
도면18h


WGA
hVimentin
DAPI
중앙 결절 1
중앙 결절 2
hMito
DAPI
중앙
간
WGA
hMito
DAPI
rAAV8-GFP
hMito
DAPI
WGA
hMito
DAPI
WGA
hMito
DAPI
rAAV8-αGD2-αCD3

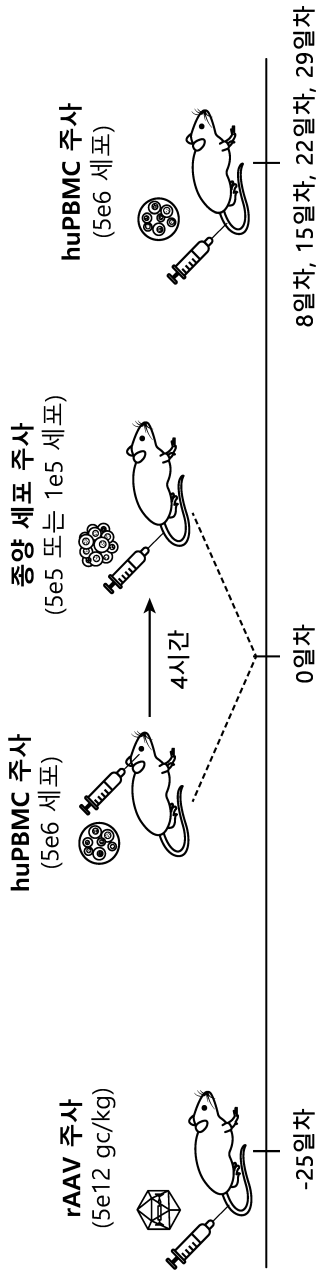
도면18i



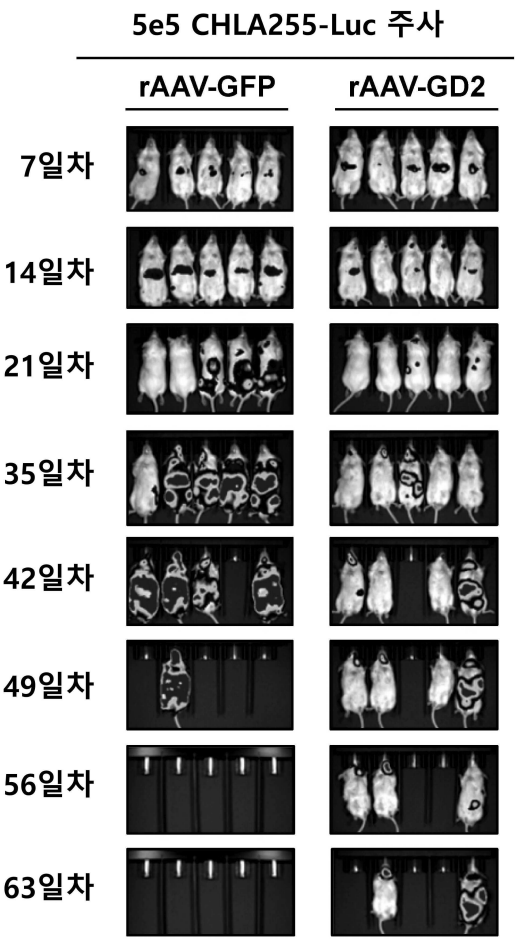
도면18j


인간 B세포
인간 CD8 T세포
인간 CD11b
인간 CD4 T세포
쥣과 CD11b
인간 T세포 (총)
살아있는 세포의 %
AAV-GFP
AAV-GD2

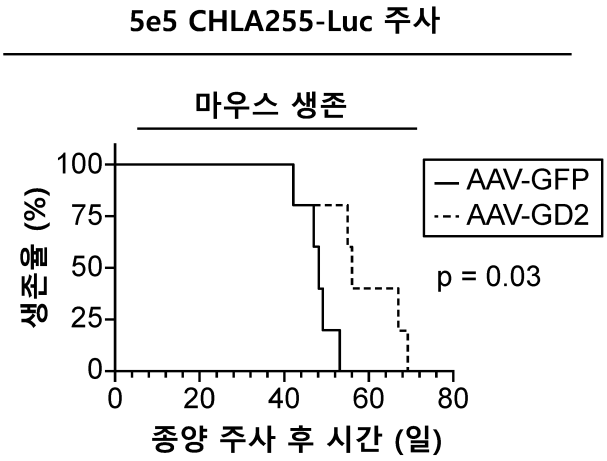
도면19a


rAAV 주사
(5e12 gc/kg)
-25일차
huPBMC 주사
(5e6 세포)
종양 세포 주사
(5e5 또는 1e5 세포)
4시간
0일차
huPBMC 주사
(5e6 세포)
8일차, 15일차, 22일차, 29일차

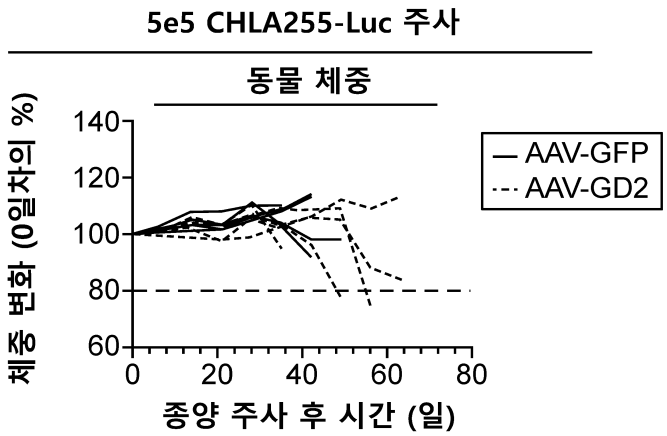
도면19b


5e5 CHLA255-Luc 주사
rAAV-GFP
rAAV-GD2
7일차
14일차
21일차
35일차
42일차
49일차
56일차
63일차

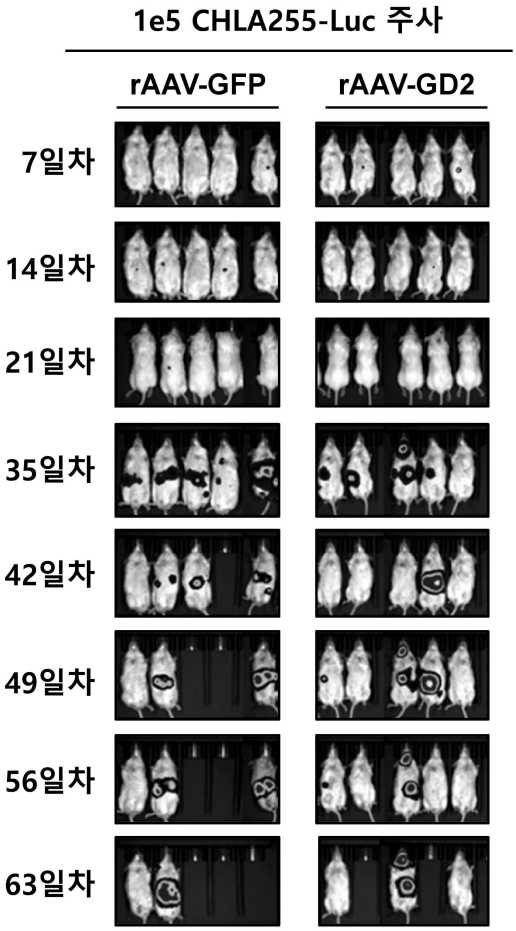
도면19c


5e5 CHLA255-Luc 주사
마우스 생존
100
75
50
25
0
생존율 (%)
0
20
40
60
80
종양 주사 후 시간 (일)
AAV-GFP
AAV-GD2
p = 0.03

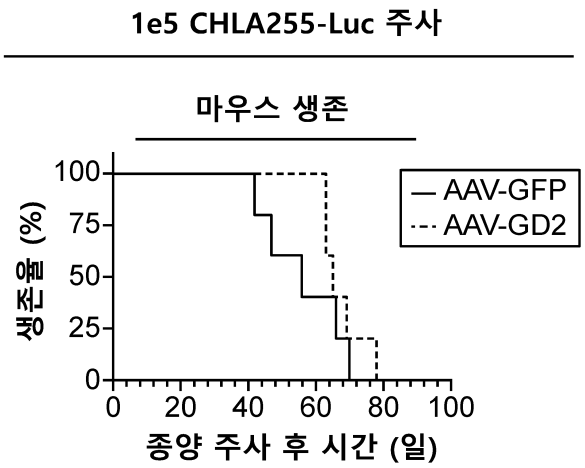
도면19d


5e5 CHLA255-Luc 주사
동물 체중
체중 변화 (0일차의 %)
140
120
100
80
60
0
20
40
60
80
종양 주사 후 시간 (일)
AAV-GFP
AAV-GD2

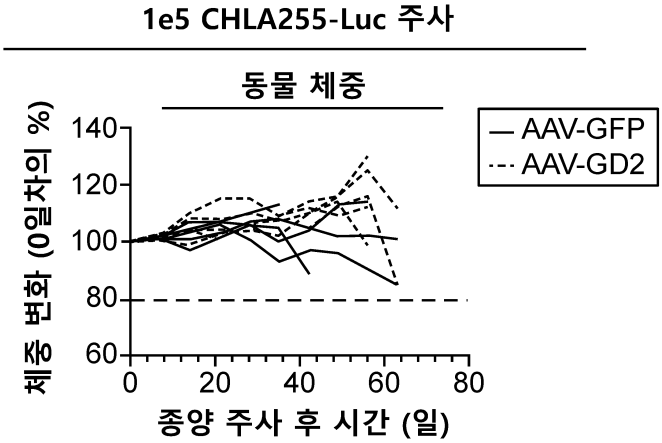
도면19e


1e5 CHLA255-Luc 주사
rAAV-GFP
rAAV-GD2
7일차
14일차
21일차
35일차
42일차
49일차
56일차
63일차

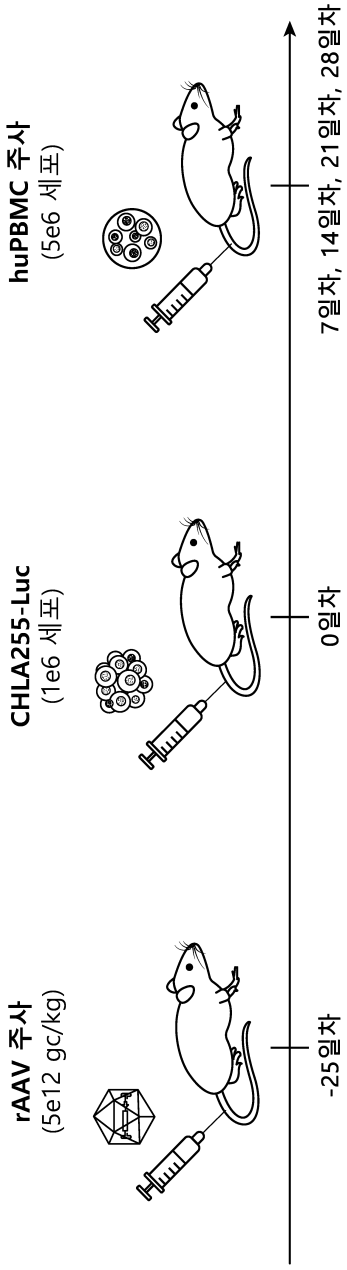
도면19f


1e5 CHLA255-Luc 주사
마우스 생존
생존율 (%)
100
75
50
25
0
0
20
40
60
80
100
종양 주사 후 시간 (일)
AAV-GFP
AAV-GD2

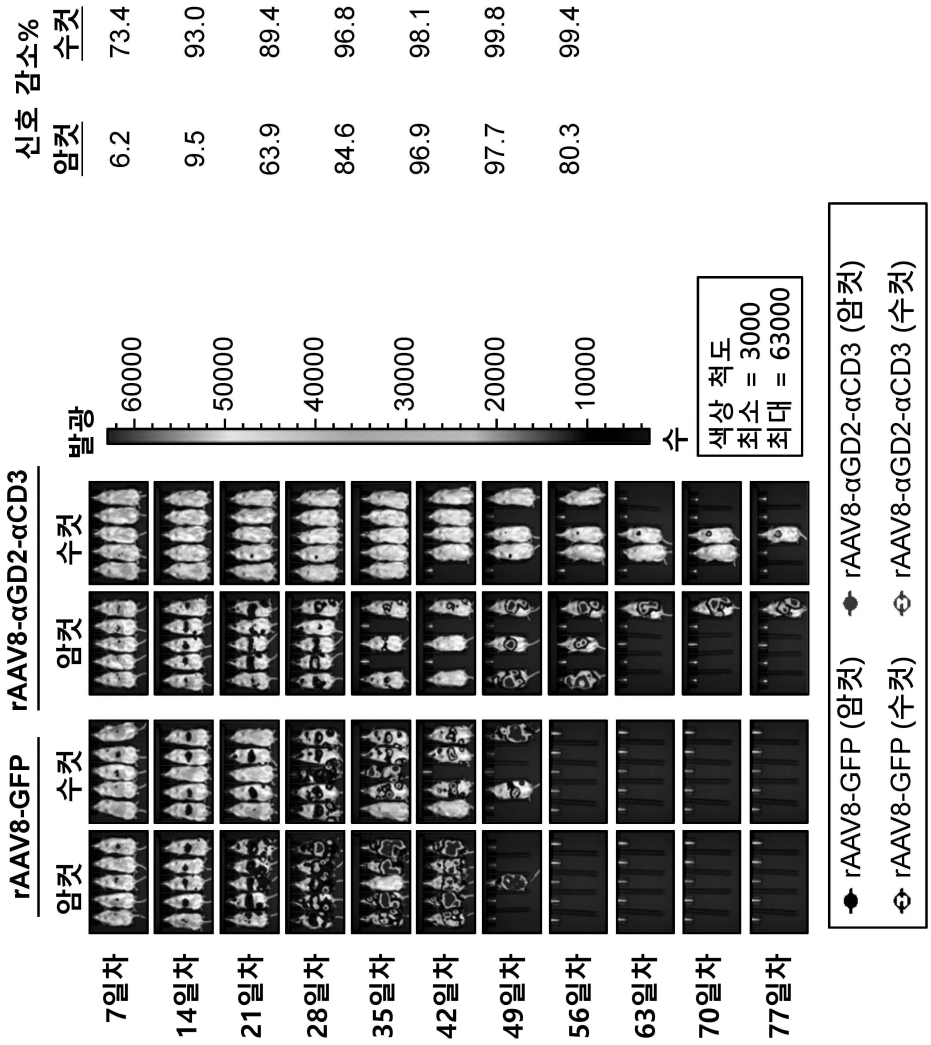
도면19g


1e5 CHLA255-Luc 주사
동물 체중
체중 변화 (0일차의 %)
140
120
100
80
60
0
20
40
60
80
종양 주사 후 시간 (일)
AAV-GFP
AAV-GD2

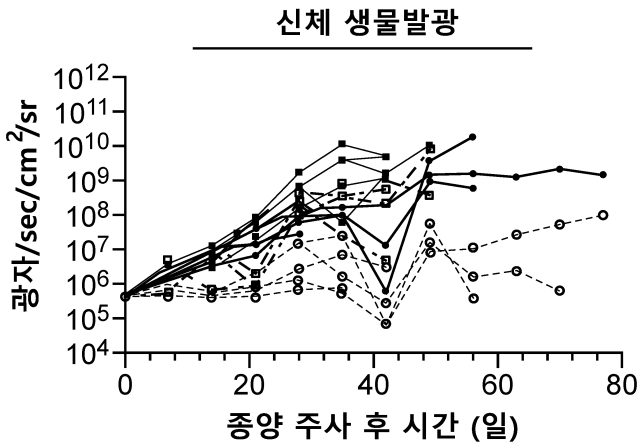
도면20a


rAAV 주사
(5e12 gc/kg)
CHLA255-Luc
(1e6 세포)
huPBMC 주사
(5e6 세포)
-25일차
0일차
7일차, 14일차, 21일차, 28일차

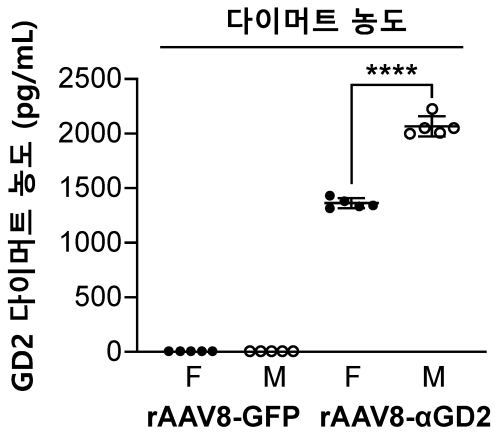
도면20b


신호 감소%
암컷 수컷
6.2 73.4
9.5 93.0
63.9 89.4
84.6 96.8
96.9 98.1
97.7 99.8
80.3 99.4
rAAV8-αGD2-αCD3
rAAV8-GFP
암컷 수컷
암컷 수컷
발광
60000 50000 40000 30000 20000 10000
수
색상 척도
최소 = 3000
최대 = 63000
7일차 14일차 21일차 28일차 35일차 42일차 49일차 56일차 63일차 70일차 77일차
rAAV8-GFP (암컷)
rAAV8-GFP (수컷)
rAAV8-αGD2-αCD3 (암컷)
rAAV8-αGD2-αCD3 (수컷)

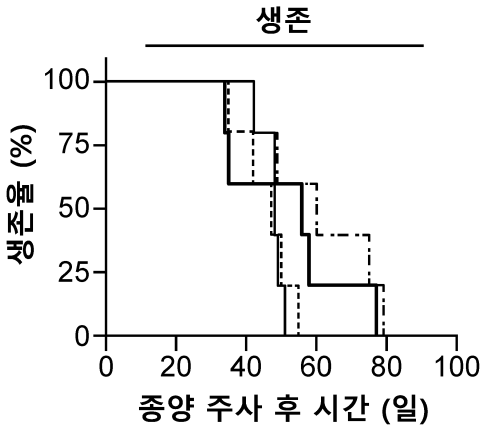
도면20c


신체 생물발광
광자/sec/cm²/sr
10¹² 10¹¹ 10¹⁰ 10⁹ 10⁸ 10⁷ 10⁶ 10⁵ 10⁴
0 20 40 60 80
종양 주사 후 시간 (일)

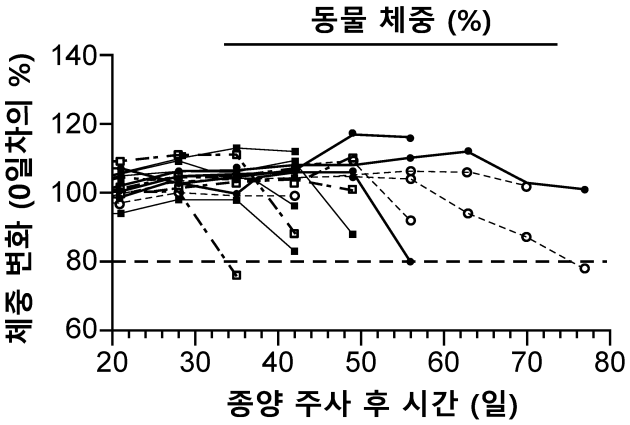
도면20d



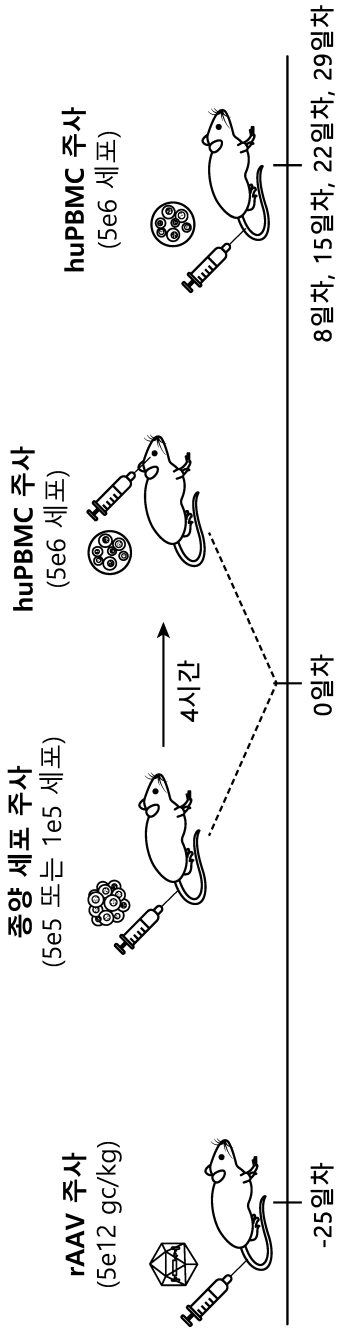
도면20e



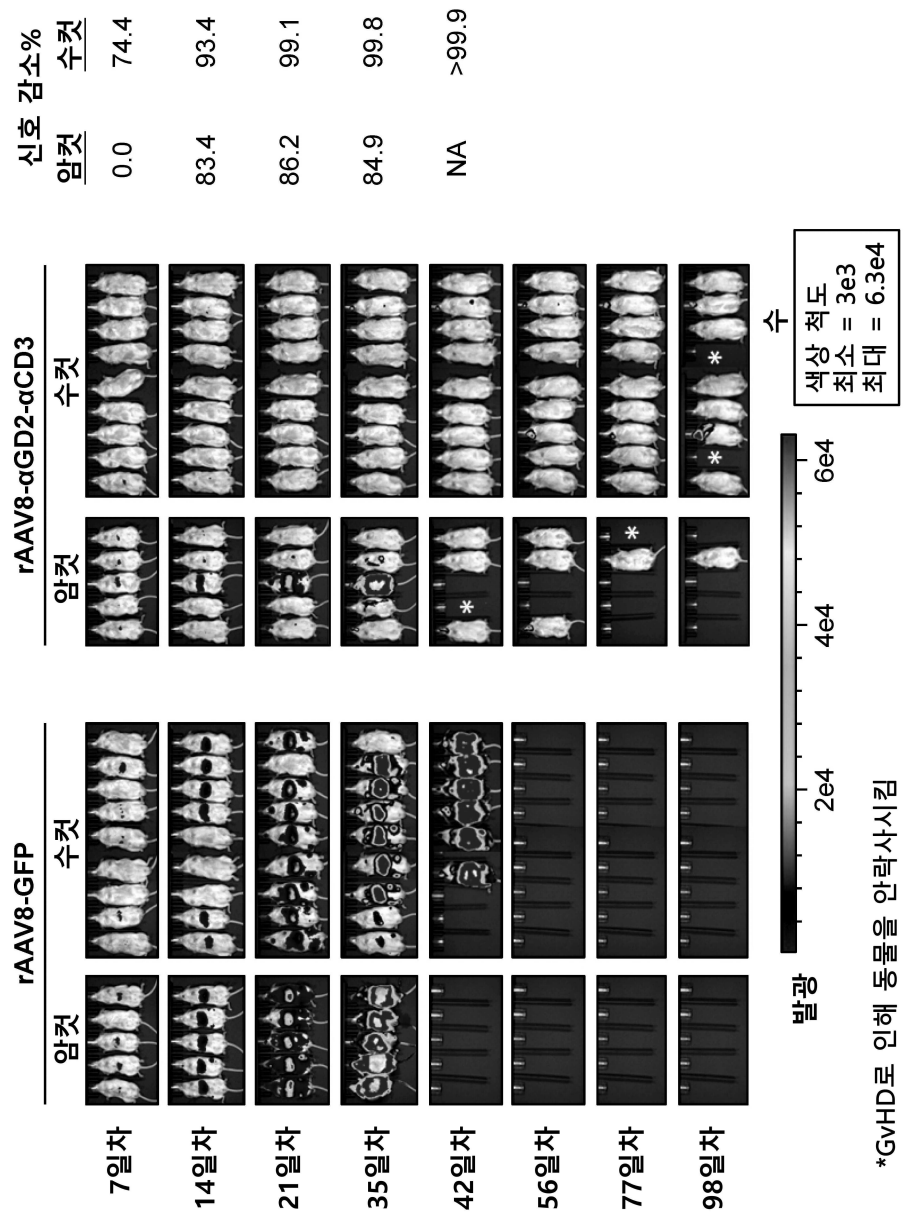
도면20f



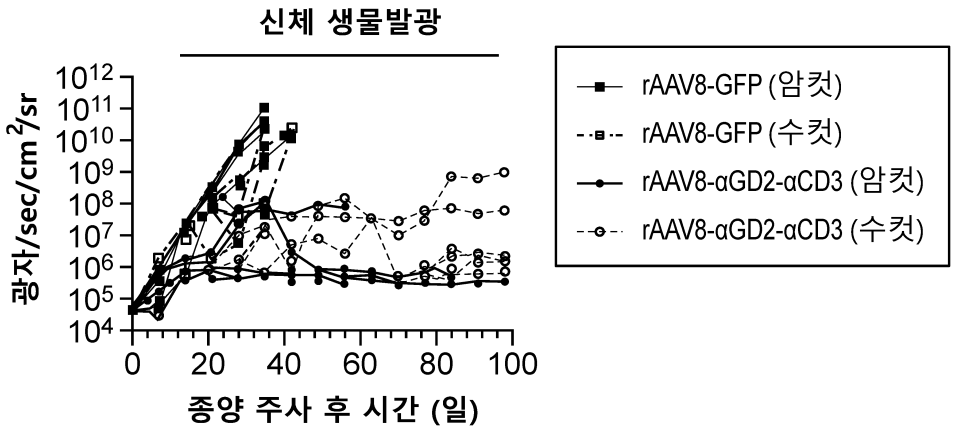
도면21a


rAAV 주사
(5e12 gc/kg)
-25일차
종양 세포 주사
(5e5 또는 1e5 세포)
4시간
0일차
huPBMC 주사
(5e6 세포)
huPBMC 주사
(5e6 세포)
8일차, 15일차, 22일차, 29일차

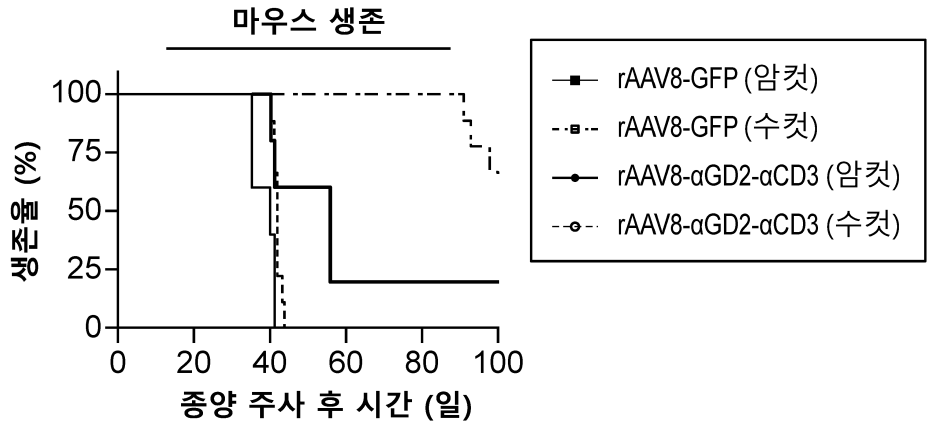
도면21b


신호 감소%
암컷 수컷
0.0 74.4
83.4 93.4
86.2 99.1
84.9 99.8
NA >99.9
rAAV8-αGD2-αCD3
rAAV8-GFP
암컷 수컷
7일차
14일차
21일차
35일차
42일차
56일차
77일차
98일차
발광
2e4
4e4
6e4
색상 척도
최소 = 3e3
최대 = 6.3e4
*GvHD로 인해 동물을 안락사시킴

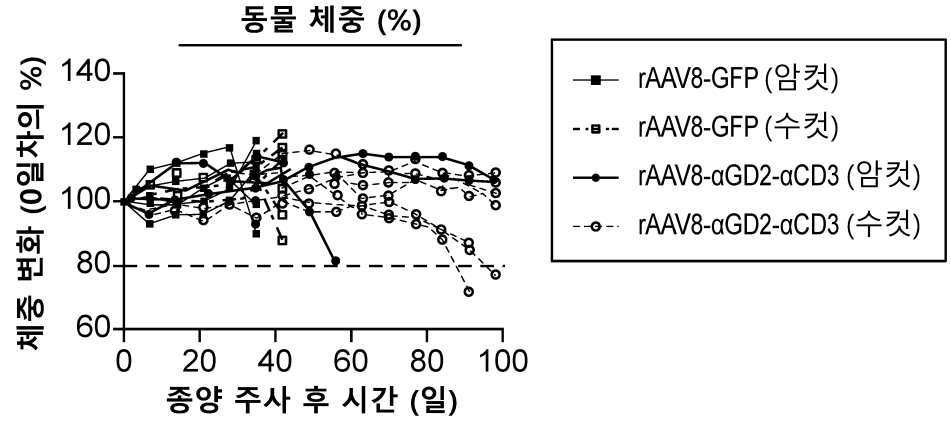
도면21c


신체 생물발광
광자/sec/cm²/sr
종양 주사 후 시간 (일)
rAAV8-GFP (암컷)
rAAV8-GFP (수컷)
rAAV8-αGD2-αCD3 (암컷)
rAAV8-αGD2-αCD3 (수컷)

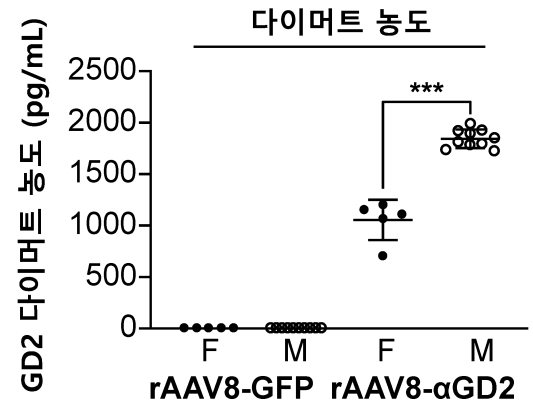
도면21d



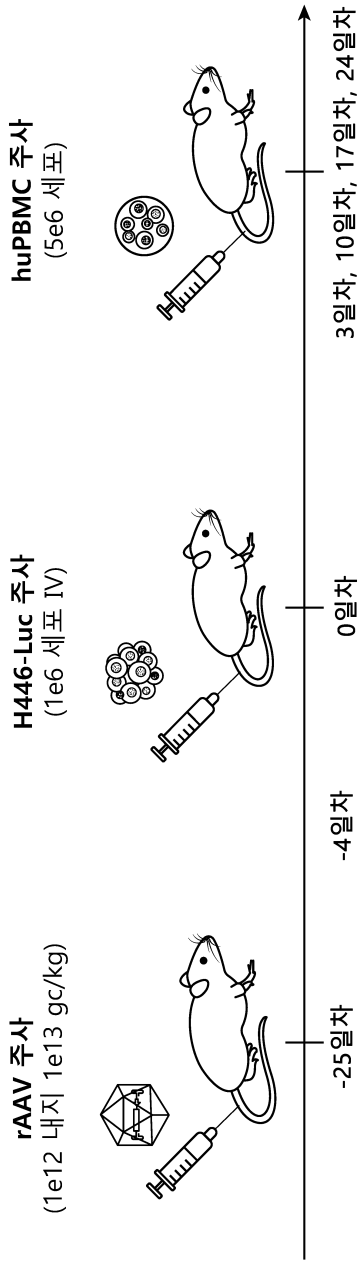
도면21e



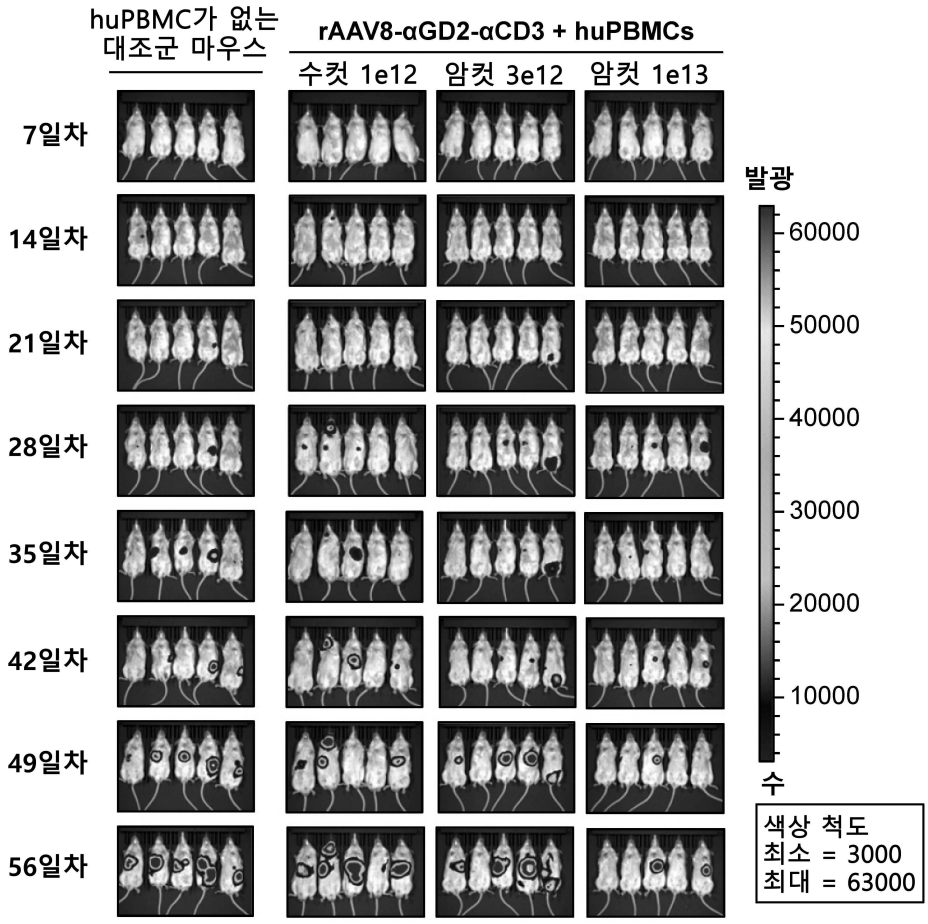
도면21f



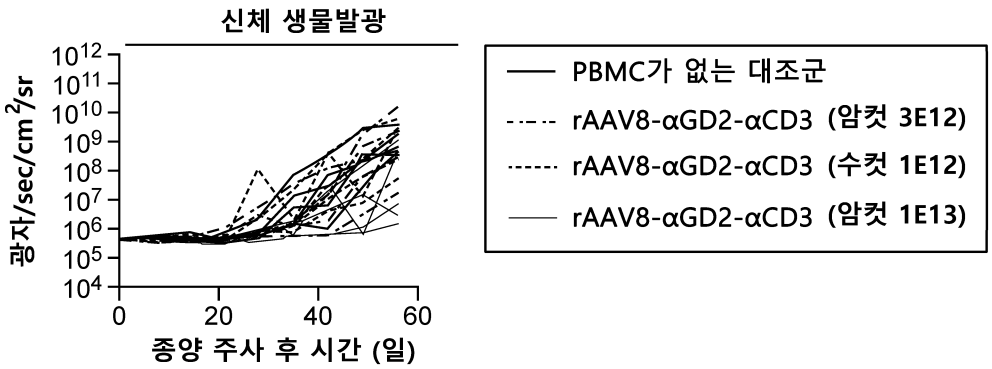
도면22a


rAAV 주사
(1e12 내지 1e13 gc/kg)
-25일차
H446-Luc 주사
(1e6 세포 IV)
-4일차
0일차
huPBMC 주사
(5e6 세포)
3일차, 10일차, 17일차, 24일차

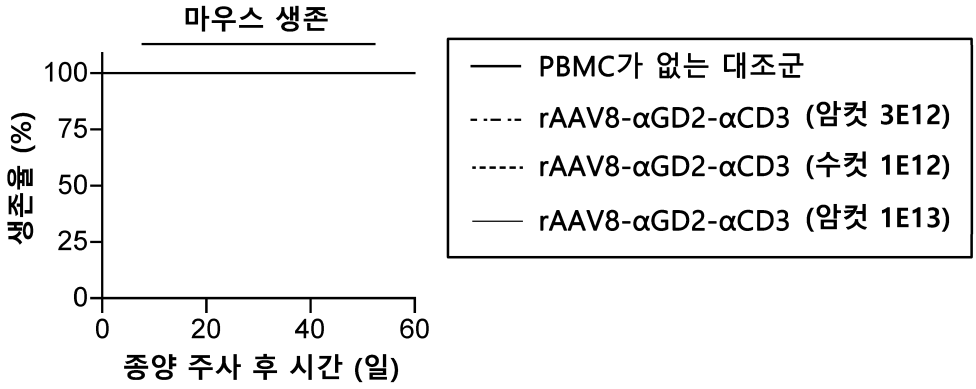
도면22b


huPBMC가 없는 대조군 마우스
rAAV8-αGD2-αCD3 + huPBMCs
수컷 1e12
암컷 3e12
암컷 1e13
7일차
14일차
21일차
28일차
35일차
42일차
49일차
56일차
발광
60000
50000
40000
30000
20000
10000
수
색상 척도
최소 = 3000
최대 = 63000

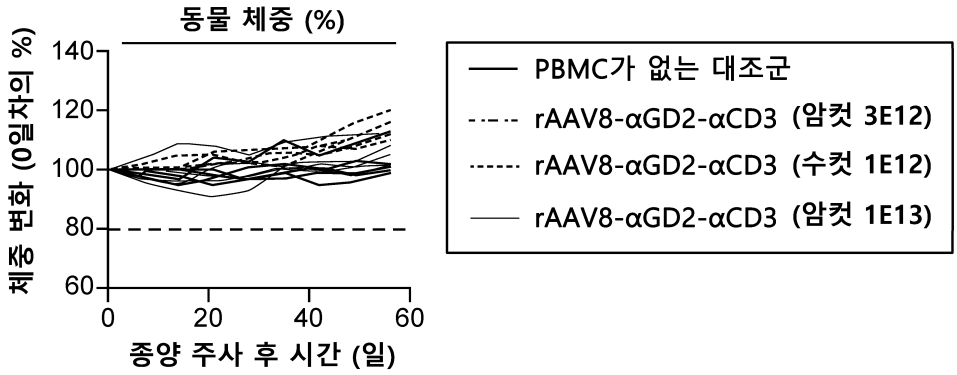
도면22c


신체 생물발광
광자/sec/cm²/sr
10¹²
10¹¹
10¹⁰
10⁹
10⁸
10⁷
10⁶
10⁵
10⁴
0
20
40
60
종양 주사 후 시간 (일)
PBMC가 없는 대조군
rAAV8-αGD2-αCD3 (암컷 3E12)
rAAV8-αGD2-αCD3 (수컷 1E12)
rAAV8-αGD2-αCD3 (암컷 1E13)

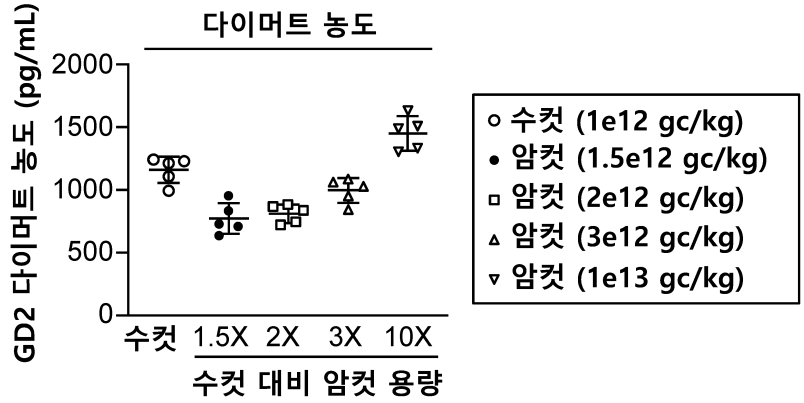
도면22d



도면22e



도면22f



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.