



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0033025
(43) 공개일자 2024년03월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/54 (2024.01)
C07K 14/725 (2006.01) C12N 5/0783 (2010.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61K 39/4613 (2023.05)
- (21) 출원번호 10-2024-7004831
(22) 출원일자(국제) 2022년07월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년02월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/073567
(87) 국제공개번호 WO 2023/288185
국제공개일자 2023년01월19일
(30) 우선권주장
63/220,842 2021년07월12일 미국(US)
- (71) 출원인
엔카르타, 인크.
미국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코 베
테란스 블러바드 1150
- (72) 발명자
라잔감, 카냐, 락쉬미
미국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코 베
테란스 블러바드 1150
트레이저, 제임스, 바나비
미국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코 베
테란스 블러바드 1150
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인이름리온

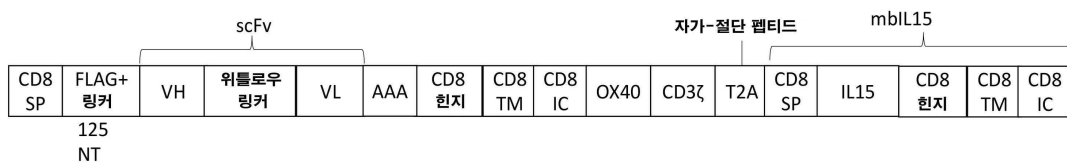
전체 청구항 수 : 총 87 항

(54) 발명의 명칭 BCMA-지시된 세포 면역요법 조성물 및 방법

(57) 요약

본원에서는 몇몇 구현예에서 항-BCMA 결합 모이어티가 제공된다. 이들 항-BCMA 결합 모이어티는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)에 사용될 수 있다. 또한, 본원에서는 항-BCMA 결합 모이어티 및 BCMA-지시된 CAR을 포함하는 면역 세포-기반 조성물이 개시된다. 몇몇 구현예에서, 상기 면역 세포-기반 조성물은 또한 추가의 종양 마커 및/또는 BCMA의 추가의 에피토프를 표적화한다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 자연 살해 세포에서 발현된다. 몇몇 구현예에서, BCMA-CAR-발현 NK 세포들의 조합은, 예를 들어 추가의 암 마커 및/또는 BCMA의 추가의 에피토프에 대해 지시된 CAR-발현 NK 세포 및/또는 CAR-발현 T 세포와 함께 투여된다. 또한, 본원에서는 면역요법에서의 키메라 항원 수용체의 방법 및 용도가 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 39/4631 (2023.05)
A61K 39/464417 (2023.05)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/5443 (2013.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C12N 5/0646 (2023.05)
C07K 2319/02 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)
C12N 2510/00 (2013.01)

(72) 발명자

구오 버렌, 록쑤안

미국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코 베
테란스 블러바드 1150

구오, 차오

미국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코 베
테란스 블러바드 1150

라제틱, 알렉산드라, 레이다, 리아나

미국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코 베
테란스 블러바드 1150

파텔, 니틴쿠마, 라크시만바이

미국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코 베
테란스 블러바드 1150

명세서

청구범위

청구항 1

항-BCMA 결합 모이어티로서,

HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하되,

상기 HCDR1은 서열번호 114, 105, 107, 129, 104, 106, 108-113, 또는 115-128 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR2는 서열번호 140, 131, 133, 155, 130, 132, 134-139, 또는 141-154 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR3은 서열번호 166, 157, 159, 181, 156, 158, 160-165, 또는 167-180 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR1은 서열번호 395, 386, 388, 410, 385, 387, 389-392, 또는 396-409 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR2는 서열번호 421, 412 414, 436, 411, 413, 415-420, 또는 422-435 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR3은 서열번호 447, 438, 440, 462, 437, 439, 441-446, 또는 448-446 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

1) 상기 HCDR1은 서열번호 114에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 140에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 166에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;

2) 상기 HCDR1은 서열번호 105에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 131에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 157에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;

3) 상기 HCDR1은 서열번호 107에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 133에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 159에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는

4) 상기 HCDR1은 서열번호 129에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 155에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 181에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

- 1) 상기 LCDR1은 서열번호 395에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 421에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 447에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;
- 2) 상기 LCDR1은 서열번호 386에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 412에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 438에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;
- 3) 상기 LCDR1은 서열번호 388에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 414에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 440에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는
- 4) 상기 LCDR1은 서열번호 410에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 436에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 462에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 VH는 서열번호 270, 261, 263, 285, 260, 262, 263-269, 또는 271-284 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 VL은 서열번호 551, 542, 544, 566, 541, 543, 545-550, 또는 552-565 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 HCDR1은 서열번호 192, 183, 185, 207, 182, 184, 186-191, 또는 192-206 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고;

상기 HCDR2는 서열번호 218, 209, 211, 233, 208, 210, 212-217, 또는 219-232 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고;

상기 HCDR3은 서열번호 244, 235, 237, 259, 234, 236, 238-243, 또는 245-258 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는,

항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 LCDR1은 서열번호 473, 464, 466, 488, 463, 465, 467-472, 또는 474-487 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고;

상기 LCDR2는 서열번호 499, 490, 492, 514, 489, 491, 493-498, 또는 500-513 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고;

상기 LCDR3은 서열번호 525, 516, 518, 540, 515, 517, 519-524, 또는 526-539 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는,

항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 VH는 서열번호 296, 287, 289, 311, 286, 288, 290-295, 또는 297-310 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 VL은 서열번호 577, 568, 570, 592, 567, 569, 571-576, 또는 578-591 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 VH 및 VL은 링커에 의해 분리되는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 링커는 서열번호 1388의 서열을 포함하는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 VH는 상기 VL의 N-말단인, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

서열번호 603, 594, 596, 618, 593, 595, 597-602, 또는 604-617 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%,

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 14

제 12 항에 있어서,

상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 629, 620, 622, 644, 619, 621, 623-628, 630-643, 또는 645-670 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 15

제 11 항에 있어서,

상기 VL은 상기 VH의 N-말단인, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 16

제 15 항에 있어서,

서열번호 681, 672, 674, 696, 671, 673, 675, -680, 또는 682-695 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 17

제 15 항에 있어서,

상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 707, 698, 700, 722, 697, 699, 701-706, 708-721, 또는 723-748 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 18

제 10 항에 있어서,

상기 링커는 서열번호 2260의 서열을 포함하는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 19

제 18 항에 있어서,

서열번호 1483, 1474, 1476, 1498, 1473, 1475, 1477-1482, 또는 1484-1497 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 20

제 18 항에 있어서,

상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1509, 1500, 1502, 1524, 1499, 1501, 1503-1508, 또는 1510-1523 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 21

BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor, CAR)로서,

제 1 항 내지 제 20 항 중의 어느 한 항의 항-BCMA 결합 모이어티를 포함하는, BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR).

청구항 22

면역 세포로서,

제 1 항 내지 제 20 항 중의 어느 한 항의 항-BCMA 결합 모이어티 또는 제 21 항의 CAR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 23

제 22 항에 있어서,

상기 면역 세포는 자연 살해(natural killer, NK)세포 또는 T세포인, 면역 세포.

청구항 24

제 21 항에 있어서,

상기 CAR은 힌지 도메인; 막관통 도메인; 및 CD3 ζ 서브도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 더 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 25

제 24 항에 있어서,

상기 세포내 신호전달 도메인은 OX40 서브도메인을 더 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 26

제 25 항에 있어서,

상기 OX40 서브도메인은 서열번호 1394에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 27

제 24 항 내지 제 26 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 CD3 ζ 서브도메인은 서열번호 1395에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 28

제 24 항 내지 제 27 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 막관통 도메인은 CD8 막관통 도메인인, BCMA-지시된 CAR.

청구항 29

제 28 항에 있어서,

상기 CD8 막관통 도메인은 서열번호 1392에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 30

제 24 항 내지 제 29 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 힌지 도메인은 CD8 힌지 도메인인, BCMA-지시된 CAR.

청구항 31

제 30 항에 있어서,

상기 CD8 힌지 도메인은 서열번호 1389에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 32

제 24 항 내지 제 31 항 중의 어느 한 항에 있어서,

서열번호 3897, 3888, 3890, 3912, 3887, 3889, 3891-3896, 또는 3898-3911 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 33

제 32 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3923, 3914, 3916, 3938, 3913, 3915, 3917-3922, 3924-3937, 또는 3939-3964 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 34

제 33 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 막-결합 인터류킨 15(membrane-bound interleukin 15, mbIL15)를 추가로 암호화하고, 서열번호 4001, 3992, 3994, 4016, 3991, 3993, 3995-4000, 4002-4015, 또는 4017-4042 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 35

제 24 항 내지 제 31 항 중의 어느 한 항에 있어서,

서열번호 4053, 4044, 4046, 4068, 4043, 4045, 4047-4052, 또는 4054-4067 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 36

제 35 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 4079, 4070, 4072, 4094, 4069, 4071, 4073-4078, 4080-4093, 또는 4095-4120 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 37

제 36 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 막-결합 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 암호화하고, 서열번호 4157, 4148, 4150, 4172, 4147, 4149, 4151-4156, 4158-4171, 또는 4173-4198 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 38

제 24 항 내지 제 31 항 중의 어느 한 항에 있어서,

서열번호 3869, 3867, 3868, 또는 3870 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 39

제 38 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3885, 3883, 3884, 또는 3886 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 40

제 36 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 막-결합 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 암호화하고, 서열번호 3837, 3835, 3836, 또는 3839 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, BCMA-지시된 CAR.

청구항 41

면역 세포로서,

제 24 항 내지 제 40 항 중의 어느 한 항의 CAR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 42

제 41 항에 있어서,

상기 면역 세포는 자연 살해(NK) 세포 또는 T 세포인, 면역 세포.

청구항 43

BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)로서,

상기 CAR은:

세포외 항-BCMA 결합 모이어티, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하되, 여기서:

상기 HCDR1은 서열번호 104-129, 1525-1543, 또는 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR2는 서열번호 130-155, 1544-1562, 또는 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR3은 서열번호 156-181, 1563-1581, 또는 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함함;

хин지 도메인;

막관통 도메인; 및

세포내 신호전달 도메인;

을 포함하는, BCMA-지시된 키메라 항원 수용체.

청구항 44

제 43 항에 있어서,

추가 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 추가 VH를 더 포함하되,

상기 추가 HCDR1은 서열번호 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 추가 HCDR2는 서열번호 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 추가 HCDR3은 서열번호 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 45

제 43 항 또는 제 44 항에 있어서,

상기 세포내 신호전달 도메인은 공-자극 서브도메인 및 CD3 ζ 서브도메인을 포함하는, 항-BCMA 결합 모이어티.

청구항 46

조작된 면역 세포의 집단으로서,

BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하도록 조작된 면역 세포의 집단을 포함하되, 상기 CAR은:

세포외 항-BCMA 결합 모이어티;

여기서 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하되,

상기 HCDR1은 서열번호 104-129, 1525-1543, 또는 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR2는 서열번호 130-155, 1544-1562, 또는 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR3은 서열번호 156-181, 1563-1581, 또는 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함함;

힌지 도메인;

막관통 도메인; 및

세포내 신호전달 도메인;

을 포함하는, 조작된 면역 세포의 집단.

청구항 47

제 46 항에 있어서,

상기 CAR은 추가의 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 추가의 VH를 더 포함하되,

상기 추가의 HCDR1은 서열번호 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 추가의 HCDR2는 서열번호 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 추가의 HCDR3은 서열번호 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

면역 세포의 집단.

청구항 48

제 46 항 또는 제 47 항에 있어서,

상기 HCDR1은 서열번호 182-207 또는 3186-3208 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 암호화되고;

상기 HCDR2는 서열번호 208-233 또는 3209-3231 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 암호화되고;

상기 HCDR3은 서열번호 234-259 또는 3232-3254 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 암호화되는,

면역 세포의 집단.

청구항 49

제 46 항에 있어서,

상기 CAR은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 더 포함하되,

상기 LCDR1은 서열번호 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR2는 서열번호 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR3은 서열번호 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

면역 세포의 집단.

청구항 50

BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하도록 조작된 면역 세포의 집단으로서,

상기 CAR은:

HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항-BCMA 결합 모이어티를 포함하되, 여기서:

상기 HCDR1은 서열번호 114, 105, 107, 129, 104, 106, 108-113, 또는 115-128 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR2는 서열번호 140, 131, 133, 155, 130, 132, 134-139, 또는 141-154 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR3은 서열번호 166, 157, 159, 181, 156, 158, 160-165, 또는 167-180 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR1은 서열번호 395, 386, 388, 410, 385, 387, 389-392, 또는 396-409 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR2는 서열번호 421, 412 414, 436, 411, 413, 415-420, 또는 422-435 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR3은 서열번호 447, 438, 440, 462, 437, 439, 441-446, 또는 448-446 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

면역 세포의 집단.

청구항 51

제 50 항에 있어서,

1) 상기 HCDR1은 서열번호 114에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 140에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 166에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;

2) 상기 HCDR1은 서열번호 105에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 131에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 157에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;

3) 상기 HCDR1은 서열번호 107에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는

100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 133에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 159에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는

4) 상기 HCDR1은 서열번호 129에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 155에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 181에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

면역 세포의 집단.

청구항 52

제 50 항 또는 제 51 항에 있어서,

1) 상기 LCDR1은 서열번호 395에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 421에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 447에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;

2) 상기 LCDR1은 서열번호 386에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 412에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 438에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;

3) 상기 LCDR1은 서열번호 388에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 414에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 440에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는

4) 상기 LCDR1은 서열번호 410에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 436에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 462에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는,

면역 세포의 집단.

청구항 53

제 50 항 내지 제 52 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 VH는 서열번호 270, 261, 263, 285, 260, 262, 263-269 또는 271-284 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포의 집단.

청구항 54

제 50 항 내지 제 53 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 VL은 서열번호 551, 542, 544, 566, 541, 543, 545-550 또는 552-565 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포의 집단.

청구항 55

제 50 항 내지 제 54 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 HCDR1은 서열번호 192, 183, 185, 207, 182, 184, 186-191, 또는 192-206 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고;

상기 HCDR2는 서열번호 218, 209, 211, 233, 208, 210, 212-217, 또는 219-232 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고;

상기 HCDR3은 서열번호 244, 235, 237, 259, 234, 236, 238-243, 또는 245-258 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는,

면역 세포의 집단.

청구항 56

제 50 항 내지 제 55 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 LCDR1은 서열번호 473, 464, 466, 488, 463, 465, 467-472, 또는 474-487 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고;

상기 LCDR2는 서열번호 499, 490, 492, 514, 489, 491, 493-498, 또는 500-513 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고;

상기 LCDR3은 서열번호 525, 516, 518, 540, 515, 517, 519-524, 또는 526-539 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는,

면역 세포의 집단.

청구항 57

제 50 항 내지 제 56 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 VH는 서열번호 296, 287, 289, 311, 286, 288, 290-295, 또는 297-310 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 면역 세포의 집단.

청구항 58

제 50 항 내지 제 57 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 VL은 서열번호 577, 568, 570, 592, 567, 569, 571-576, 또는 578-591 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 면역 세포의 집단.

청구항 59

제 50 항 내지 제 58 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 VH 및 VL은 링커(linker)에 의해 분리되는, 면역 세포의 집단.

청구항 60

제 59 항에 있어서,

상기 링커는 서열번호 1388의 서열을 포함하는, 면역 세포의 집단.

청구항 61

제 60 항에 있어서,

상기 VH는 상기 VL의 N-말단인, 면역 세포의 집단.

청구항 62

제 61 항에 있어서,

상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 603, 594, 596, 618, 593, 595, 597-602, 또는 604-617 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포의 집단.

청구항 63

제 61 항 또는 제 62 항에 있어서,

상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 629, 620, 622, 644, 619, 621, 623-628, 630-643, 또는 645-670 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 면역 세포의 집단.

청구항 64

제 60 항에 있어서,

상기 VL은 상기 VH의 N-말단인, 면역 세포의 집단.

청구항 65

제 64 항에 있어서,

상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 681, 672, 674, 696, 671, 673, 675,-680, 또는 682-695 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포의 집단.

청구항 66

제 64 항 또는 제 65 항에 있어서,

상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 707, 698, 700, 722, 697, 699, 701-706, 708-721, 또는 723-748 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 면역 세포의 집단.

청구항 67

제 59 항에 있어서,

상기 링커는 서열번호 2260의 서열을 포함하는, 면역 세포의 집단.

제 67 항에 있어서,

서열번호 1483, 1474, 1476, 1498, 1473, 1475, 1477-1482, 또는 1484-1497 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 면역 세포의 집단.

청구항 68

제 67 항 또는 제 68 항에 있어서,

상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1509, 1500, 1502, 1524, 1499, 1501, 1503-1508, 또는 1510-1523 중

의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 면역 세포의 집단.

청구항 69

제 46 항 내지 제 69 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 면역 세포는 자연 살해(NK) 세포 또는 T 세포인, 면역 세포의 집단.

청구항 70

암을 치료하는 방법으로서,

상기 방법은:

이를 필요로 하는 대상체에게 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 면역 세포의 집단을 투여하는 것을 포함하되,

상기 CAR은:

HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL), 여기서:

상기 HCDR1은 서열번호 114, 105, 107, 129, 104, 106, 108-113, 또는 115-128 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR2는 서열번호 140, 131, 133, 155, 130, 132, 134-139, 또는 141-154 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR3은 서열번호 166, 157, 159, 181, 156, 158, 160-165, 또는 167-180 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR1은 서열번호 395, 386, 388, 410, 385, 387, 389-392, 또는 396-409 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR2는 서열번호 421, 412 414, 436, 411, 413, 415-420, 또는 422-435 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR3은 서열번호 447, 438, 440, 462, 437, 439, 441-446, 또는 448-446 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함함;

хин지 도메인;

막관통 도메인; 및

CD3ζ 서브도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인;

을 포함하는, 방법.

청구항 71

제 71 항에 있어서,

상기 VH는 서열번호 270, 261, 263, 285, 260, 262, 263-269, 또는 271-284 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 72

제 71 항 또는 제 72 항에 있어서,

상기 VL은 서열번호 551, 542, 544, 566, 541, 543, 545-550, 또는 552-565 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 73

제 72 항 또는 제 73 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3897, 3888, 3890, 3912, 3887, 3889, 3891-3896, 또는 3898-3911 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 74

제 74 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3923, 3914, 3916, 3938, 3913, 3915, 3917-3922, 3924-3937, 또는 3939-3964 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 방법.

청구항 75

제 75 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 막-결합 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 암호화하고, 서열번호 4001, 3992, 3994, 4016, 3991, 3993, 3995-4000, 4002-4015, 또는 4017-4042 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 76

제 72 항 또는 제 73 항에 있어서,

서열번호 4053, 4044, 4046, 4068, 4043, 4045, 4047-4052, 또는 4054-4067 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 77

제 77 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 4079, 4070, 4072, 4094, 4069, 4071, 4073-4078, 4080-4093, 또는 4095-4120 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 방법.

청구항 78

제 78 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 막-결합 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 암호화하고, 서열번호 4157, 4148, 4150, 4172, 4147, 4149, 4151-4156, 4158-4171, 또는 4173-4198 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 79

제 72 항 또는 제 73 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3869, 3867, 3868, 또는 3870 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 80

제 80 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3885, 3883, 3884, 또는 3886 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되는, 방법.

청구항 81

제 81 항에 있어서,

상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 막-결합 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 암호화하고, 서열번호 3837, 3835, 3836, 또는 3839 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 82

제 71 항 내지 제 82 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 면역 세포는 NK 세포인, 방법.

청구항 83

제 71 항 내지 제 83 항 중의 어느 한 항에 있어서,

상기 암은 다발성 골수종인, 방법.

청구항 84

암의 치료를 위한 조작된 면역 세포의 집단의 용도로서,

상기 면역 세포는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하고,

상기 CAR은:

HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL), 여기서:

상기 HCDR1은 서열번호 114, 105, 107, 129, 104, 106, 108-113, 또는 115-128 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR2는 서열번호 140, 131, 133, 155, 130, 132, 134-139, 또는 141-154 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 HCDR3은 서열번호 166, 157, 159, 181, 156, 158, 160-165, 또는 167-180 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR1은 서열번호 395, 386, 388, 410, 385, 387, 389-392, 또는 396-409 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR2는 서열번호 421, 412 414, 436, 411, 413, 415-420, 또는 422-435 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고;

상기 LCDR3은 서열번호 447, 438, 440, 462, 437, 439, 441-446, 또는 448-446 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함함;

인지 도메인;

막관통 도메인; 및

CD3ζ 서브도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인;

을 포함하는, 용도.

청구항 85

암의 치료를 위한 조작된 면역 세포의 집단의 용도로서,
상기 면역 세포는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하되,
상기 CAR은:

HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 여기서:

상기 HCDR1은 서열번호 114, 105, 107, 129, 104, 106, 108-113, 또는 115-128 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고,

상기 HCDR2는 서열번호 140, 131, 133, 155, 130, 132, 134-139, 또는 141-154 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고,

상기 HCDR3은 서열번호 166, 157, 159, 181, 156, 158, 160-165, 또는 167-180 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함함;

хин지 도메인;

막관통 도메인; 및

CD3ζ 서브도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인;

을 포함하는, 용도.

청구항 86

제 86 항 또는 제 87 항에 있어서,
암의 치료를 위한 의학의 제조에서의 용도.

청구항 87

제 86 항, 제 87 항 또는 제 88 항에 있어서,
상기 암은 다발성 골수종인, 용도.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원의 교차 참조
- [0002] 본원은 2021년 7월 12일자로 출원된 미국 가출원 번호 제63/220842호의 우선권을 주장하며, 그의 전문이 여기에 참조로 포함된다.
- [0003] 참조에 의한 ASCII 텍스트 파일 자료의 통합
- [0004] 서열목록은 본원과 동시에 제출되는 하기 ASCII 텍스트 파일에 포함된다: 파일명: NKT074PR_ST26.xml; 크기 13,071,224 바이트; 작성일: 2022년 7월 8일. 전자문서 형식의 상기 서열목록은 그 전체가 명시적으로 본원에 참조로 포함된다.
- [0005] 분야
- [0006] 본원에 제공된 방법 및 조성물의 일부 구현에는 B-세포 성숙 항원(B-Cell Maturation Antigen; BCMA)-표적화 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor; CAR)를 사용하는 세포 요법에 관한 것이다. 일부 구현에는, NK 및/또는 T 세포에 의해 발현된 하나 이상의 이러한 구조체에 관한 것이다. 또한 BCMA에 결합하는 항원 결합

분자가 본원에 개시된다.

배경 기술

[0007] 다양한 암, 및 건강한 세포와 특이적으로 구별되는 암세포의 특성에 대한 추가 지식이 수득됨에 따라, 암세포의 명백한 특징을 활용하는 치료제가 개발되고 있다. 조작된 면역 세포를 이용하는 면역요법은 암을 치료하는 하나의 접근법이다.

발명의 내용

[0008] 면역요법은 질병 치료에서 새로운 기술 발전을 제시하고, 여기에서 면역 세포가 조작되어 질병 세포 또는 손상된 세포를 특이적으로 식별하고 이에 반응하는 특정 표적화 및/또는 이펙터 분자를 발현한다. 상기는, 모든 세포가 영향을 받는 화학 요법과 같은 보다 전통적인 접근법과 달리 질병 또는 손상된 세포를 특이적으로 표적화하는 가능성으로 인해 적어도 부분적으로 유망한 진전을 나타내고, 바람직한 결과는 환자의 부작용을 완화하기에 충분하게 건강한 세포가 생존하는 것이다. 하나의 면역요법 접근은 관심있는 이상 세포(aberrant cells), 예를 들어 암의 표적화된 인식 및 파괴를 달성하기 위한 면역 세포에서 키메라 항원 수용체(CAR)의 재조합 발현이다.

[0009] 특정 암에서, 면역요법에 대한 환자 반응은 초기에는 강력하고 양성이지만, 수명이 짧다. 이러한 프로파일은 본원에 제공된 세포 면역요법 조성물의 몇몇 구현예에 의해 다루어진다. 예를 들어 몇몇 구현예에서, 자연 살해(NK) 세포는 하나 이상의 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하도록 조작된다. NK 세포의 고유한 급속 면역 반응과 함께, 조작된 NK 세포가 나타내는 증강된 세포 독성으로 인해, 몇몇 구현예는 종양 부담을 실질적으로 감소시키거나 심지어 제거할 수 있는 증강된 초기 항암 효과를 가능하게 한다. 몇몇 구현예에서, 이러한 조작된 NK 세포는 적어도 부분적으로 T 세포와 비교하여 그의 감소된 면역원성 잠재력으로 인해 특히 중요한데, 그 이유는 공격성 암이 자가 T 세포 요법이 생성되기에 충분한 시간을 허용하지 않을 수 있기 때문이다.

[0010] 항-BCMA 결합 모이어티는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하되, 상기 HCDR1은 서열번호 114, 105, 107, 129, 104, 106, 108-113, 또는 115-128 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 140, 131, 133, 155, 130, 132, 134-139, 또는 141-154 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 166, 157, 159, 181, 156, 158, 160-165, 또는 167-180 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 더 포함하되, 상기 LCDR1은 서열번호 395, 386, 388, 410, 385, 387, 389-392, 또는 396-409 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 421, 412 414, 436, 411, 413, 415-420, 또는 422-435 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 447, 438, 440, 462, 437, 439, 441-446, 또는 448-446 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티를 포함하는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)가 본원에 제공된다. 또한, 상기 항-BCMA 결합 모이어티를, 선택적으로는 상기 BCMA-지시된 CAR의 형태로, 발현하도록 조작된 면역 세포의 집단이 제공된다. 몇몇 구현예에서, 대상체에게 상기 BCMA-지시된 CAR을 발현하도록 조작된 면역 세포(예를 들어 자연 살해(NK) 세포 및/또는 T 세포)의 집단을 투여하는 것을 포함하는, 암, 예를 들어 다발성 골수종을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 몇몇 구현예에서, 의약의 제조에서의 및/또는 암의 치료를 위한 상기 BCMA-지시된 CAR의 용도가 또한 본원에 제공된다.

[0011] 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 HCDR1은 서열번호 114에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 140에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 166에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0012] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 HCDR1은 서열번호 105에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 131

에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 157에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0013] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 HCDR1은 서열번호 107에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 133에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 159에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0014] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 HCDR1은 서열번호 129에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 155에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 181에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0015] 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 LCDR1은 서열번호 395에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 421에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 447에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0016] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 LCDR1은 서열번호 386에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 412에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 438에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0017] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 LCDR1은 서열번호 388에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 414에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 440에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0018] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 LCDR1은 서열번호 410에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 436에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 462에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0019] 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 VH는 서열번호 270, 261, 263, 285, 260, 262, 263-269 또는 271-284 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 VL은 서열번호 551, 542, 544, 566, 541, 543, 545-550 또는 552-565 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0020] 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 HCDR1은 서열번호 192, 183, 185, 207, 182, 184, 186-191 또는 192-206 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 HCDR2는 서열번호 218, 209, 211, 233, 208, 210, 212-217, 또는 219-232 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 HCDR3은 서열번호 244, 235, 237, 259, 234, 236, 238-243 또는 245-258 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0021] 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 LCDR1은 서열번호 473, 464, 466, 488, 463, 465, 467-472 또는

는 474-487 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 LCDR2는 서열번호 499, 490, 492, 514, 489, 491, 493-498 또는 500-513 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화되고, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 LCDR3은 서열번호 525, 516, 518, 540, 515, 517, 519-524 또는 526-539 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0022] 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 VH는 서열번호 296, 287, 289, 311, 286, 288, 290-295, 또는 297-310 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 VL은 서열번호 577, 568, 570, 592, 567, 569, 571-576, 또는 578-591 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0023] 몇몇 구현예에서, 상기 VH 및 VL은 (존재하는 경우) 링커에 의해 분리된다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 링커는 서열번호 1388에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 VH는 VL의 N-말단이다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 603, 594, 596, 618, 593, 595, 597-602, 또는 604-617 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 629, 620, 622, 644, 619, 621, 623-628, 630-643, 또는 645-670 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0024] 몇몇 구현예에서, 상기 VL은 (존재하는 경우) VH의 N-말단이다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 681, 672, 674, 696, 671, 673, 675, -680 또는 682-695 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 707, 698, 700, 722, 697, 699, 701-706, 708-721, 또는 723-748 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0025] 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 링커는 서열번호 2260에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1483, 1474, 1476, 1498, 1473, 1475, 1477-1482, 또는 1484-1497 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1509, 1500, 1502, 1524, 1499, 1501, 1503-1508, 또는 1510-1523 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0026] 또한, 본원에 기재된 항-BCMA 결합 모이어티를 포함하는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)가 본원에 제공된다. 또한, 본원에 기재된 항-BCMA 결합 모이어티를 포함하는 면역 세포가 본원에 제공된다. 몇몇 구현예에서, 상기 면역 세포는 자연 살해(NK) 세포 또는 T 세포이다.

[0027] 몇몇 구현예에서, 상기 CAR은 힌지 도메인; 막관통 도메인; 및 CD3 ζ 서브도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 더 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 OX40 서브도메인을 더 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 서열번호 1394에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 서열번호 1395에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 막관통 도메인은 CD8 막관통 도메인이다. 몇몇 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 서열번호 1392에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 힌지 도메인은 CD8 힌지 도메인이다. 몇몇 구현예에서, 상기 CD8 힌지 도메인은 서열번호 1389에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 CD28-유래 힌지, 막관통 및/또는 세포내 도메인은 하나 이상의 CD8 도메인 대신에 사용될 수 있다.

- [0028] 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3897, 3888, 3890, 3912, 3887, 3889, 3891-3896 또는 3898-3911 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3923, 3914, 3916, 3938, 3913, 3915, 3917-3922, 3924-3937, 또는 3939-3964 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 추가로 막-결합된 인터류킨(membrane-bound interleukin) 15(mbIL15)를 암호화하고, 서열번호 4001, 3992, 3994, 4016, 3991, 3993, 3995-4000, 4002-4015, 또는 4017-4042 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0029] 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 4053, 4044, 4046, 4068, 4043, 4045, 4047-4052, 또는 4054-4067 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 4079, 4070, 4072, 4094, 4069, 4071, 4073-4078, 4080-4093, 또는 4095-4120 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 막-결합 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 암호화하고, 서열번호 4157, 4148, 4150, 4172, 4147, 4149, 4151-4156, 4158-4171, 또는 4173-4198 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0030] 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3869, 3867, 3868, 또는 3870 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3885, 3883, 3884, 또는 3886 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR을 암호화하는 핵산은 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15)를 추가로 암호화하고, 서열번호 3837, 3835, 3836, 또는 3839 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0031] 또한, 본원에서는 VHH-BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)가 제공되며, 상기 CAR은 세포외 항-BCMA 결합 모이어티를 포함하고, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하고, 상기 HCDR1은 서열번호 104-129, 1525-1543, 또는 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 130-155, 1544-1562, 또는 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 상기 HCDR3은 서열번호 156-181, 1563-1581, 또는 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열; 힌지 도메인; 막관통 도메인; 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0032] 몇몇 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 추가의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 추가의 VH를 더 포함하되, 상기 추가의 HCDR1은 서열번호 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 추가의 HCDR2는 서열번호 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 상기 추가의 HCDR3은 서열번호 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 추가의 HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3에 대해 다른 서열이 사용된다.
- [0033] 몇몇 구현예에서, 상기 세포내 신호전달 도메인은 공-자극 서브도메인 및 CD3 ζ 서브도메인을 포함한다.
- [0034] 또한, 본원에서는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하도록 조작된 조작된 면역 세포의 집단이 제공되며, 상기 CAR은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는 세포외 항-BCMA 결합 모이어티를 포함하고, 상기 HCDR1은 서열번호 104-129, 1525-1543, 또는 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 130-155, 1544-1562, 또는 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호

156-181, 1563-1581, 또는 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열, 및 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 면역 세포에 의해 발현된 CAR은 추가의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 추가의 VH를 더 포함하되, 상기 추가의 HCDR1은 서열번호 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 추가의 HCDR2는 서열번호 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 추가의 HCDR3은 서열번호 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 구현예에 따라, 상기 추가의 HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3에 대해 다른 서열이 사용될 수 있다. 몇몇 구현예에서, 상기 HCDR1은 서열번호 182-207 또는 3186-3208 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 암호화되고, 상기 HCDR2는 서열번호 208-233 또는 3209-3231 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 암호화되고, 상기 HCDR3은 서열번호 234-259 또는 3232-3254 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0035] 몇몇 구현예에서, 상기 CAR은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 더 포함하되, 상기 LCDR1은 서열번호 3117-3139 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 3140-3162 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 3163-3185 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0036] 또한, 본원에서는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하도록 조작된 면역 세포의 집단이 제공되되, 상기 CAR은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항-BCMA 결합 모이어티를 포함하되, 상기 HCDR1은 서열번호 114, 105, 107, 129, 104, 106, 108-113, 또는 115-128 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 140, 131, 133, 155, 130, 132, 134-139, 또는 141-154 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 166, 157, 159, 181, 156, 158, 160-165, 또는 167-180 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 상기 LCDR1은 서열번호 395, 386, 388, 410, 385, 387, 389-392, 또는 396-409 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 421, 412 414, 436, 411, 413, 415-420, 또는 422-435 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 447, 438, 440, 462, 437, 439, 441-446, 또는 448-446 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0037] 몇몇 구현예에서, 암을 치료하는 방법이 제공되되, 상기 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 면역 세포의 집단을 투여하는 것을 포함하되, 상기 CAR은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, 상기 HCDR1은 서열번호 114, 105, 107, 129, 104, 106, 108-113, 또는 115-128 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 140, 131, 133, 155, 130, 132, 134-139, 또는 141-154 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 166, 157, 159, 181, 156, 158, 160-165, 또는 167-180 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 상기 LCDR1은 서열번호 395, 386, 388, 410, 385, 387, 389-392, 또는 396-409 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 421, 412 414, 436, 411, 413, 415-420, 또는 422-435 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 447, 438, 440, 462, 437, 439, 441-446, 또는 448-446 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%,

93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열 및 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 CD3 ζ 서브도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 VH는 서열번호 270, 261, 263, 285, 260, 262, 263-269 또는 271-284 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 VL은 서열번호 551, 542, 544, 566, 541, 543, 545-550, 또는 552-565 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3897, 3888, 3890, 3912, 3887, 3889, 3891-3896, 또는 3898-3911 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 4053, 4044, 4046, 4068, 4043, 4045, 4047-4052, 또는 4054-4067 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 3869, 3867, 3868, 또는 3870 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 상기 방법(및 면역 세포의 집단의 사용)은 암, 예를 들어 다발성 골수종의 치료를 위한 것이다.

[0038] 본원에서는 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항-BCMA 결합 모이어티가 개시된다. 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 일부 구현예에서, 상기 HCDR1은 서열번호 104-129 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 130-155 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 156-181 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 일부 구현예에서, 상기 LCDR1은 서열번호 385-410 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 411-436 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 437-462 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VH는 서열번호 260-285 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VL은 서열번호 541-566 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0039] 또한, 세포의 항-BCMA 결합 모이어티, 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 OX40 서브도메인 및 CD3 ζ 서브도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체가 본원에 개시된다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 본원에 개시된 항-BCMA 결합 모이어티 중의 어느 하나이다. 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 서열번호 1394에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 서열번호 1395에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 막관통 도메인은 CD8 막관통 도메인이다. 일부 구현예에서, 상기 힌지 도메인은 CD8 힌지 도메인, IgG4 힌지 도메인, 또는 RQRCD8 힌지 도메인이다.

[0040] 또한 본원에는 BCMA-지시된 CAR 및 막-결합된 IL15(mbIL15)를 포함하는 BCMA-지시된 CAR 구조체가 개시된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 본원에 개시된 BCMA-지시된 CAR 중의 어느 하나이다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15는 서열번호 1398에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0041] 또한, 본원에 개시된 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, 또는 BCMA-지시된 CAR 구조체 중의 어느 하나를 포함하는 면역 세포 또는 면역 세포의 집단이 본원에 개시된다. 일부 구현예에서, 상기 면역 세포는 NK 세포 및/또는 T 세포이다.

[0042] 또한, 본원에서는 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이 개시된다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 본원에 개시된 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, BCMA-지시된 CAR 구조체, 또는 조작된 면역 세포 중의 어느 하나를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 또한, 암 치료에 사용하기 위한 본원에 개시된 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, BCMA-지시된 CAR 구조체, 또는 조작된 면역 세포 중의 어느 하나가 본원에서

개시된다. 또한, 의약의 제조에 사용하기 위한 본원에 개시된 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, BCMA-지시된 CAR 구조체, 또는 조작된 면역 세포 중의 어느 하나가 본원에서 개시된다.

도면의 간단한 설명

[0043]

도 1의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 사용되는 CAR 구조체의 비-제한적 구현예의 모음을 도시한다. 묘사된 구조체는 자가-절단 펩티드(예를 들어 T2A)에 의해 CAR 자체로부터 분리된 막-결합된 IL15 구조체를 포함한다. 그러나, IL15 구조체(및 분리형 자가-절단 펩티드)를 제외한 CAR도 본원에서 제공된다. "CD8 SP": CD8 신호 펩티드; "GS 링커": 글리신 및 세린을 포함하는 링커; "VH": 중쇄 가변 영역; "VL": 경쇄 가변 영역; "CD8 TM": CD8 막관통 도메인; "CD8 IC": CD8 세포내 도메인; "OX40": OX40 세포내 도메인; "CD3 ζ": CD3 ζ 도메인. 도 1의 A는 VH-VL 포맷(format)을 보여준다. 도 1의 B는 VL-VH 포맷을 보여준다. 도 1의 C는 보다 짧은 힌지(IgG4)를 갖는 VH-VL 포맷이다. 도 1의 D는 보다 긴 힌지(shorter hinge)(RQRCD8)를 갖는 VH-VL 포맷을 보여준다. 이들은 뉴클레오티드 서열을 나타내고 암호화된 CAR 구조체는 T2A 및 mbIL15를 포함하지 않을 것이며, 암호화된 경우 세포 상에서 별도로 발현되는 것으로 이해되어야 한다.

도 2는 중쇄 가변 영역(VH) 상보성-결정 영역(CDR) 1, 2 및 3(HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3) 서열의 비-제한적 조합을 도시한다. 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, 및 이를 발현하는 세포의 구현예는 여기에 도시된 임의의 비-제한적 조합을 사용할 수 있다.

도 3은 경쇄 가변 영역(VL) CDR 1, 2, 3(LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3) 서열의 비-제한적 조합을 도시한다. 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, 및 이를 발현하는 세포의 구현예는 여기에 도시된 임의의 비-제한적 조합을 사용할 수 있다.

도 4는 VH와 VL 서열의 비-제한적 조합을 묘사한다. 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, 및 이를 발현하는 세포의 구현예는 본원에 도시된 임의의 비-제한적 조합을 사용할 수 있다.

도 5의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 5의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, OX-40 공-자극 도메인 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VH-GS 링커-VL scFv의 비-제한적 개략도를 나타낸다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 5의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 5의 C 및 도 5의 D는 플래그(FLAG) 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 6a 내지 도 6d는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 나타낸다. 도 6a는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, OX-40 공-자극 도메인 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VH-위틀로우(Whitlow) 링커-VL scFv, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 나타낸다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 6b는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 6c 및 도 6d는 플래그(FLAG) 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 7의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에서 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 7의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, OX-40 공-자극 도메인 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VL-위틀로우 링커-VH scFv, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 7의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 7의 C 및 도 7의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 8의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에서 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 8의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, OX-40 공-자극 도메인 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, 낙타과(camelid) VH 도메인의 비-제한적 개략도를 나타낸다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 8의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 8의 C 및 도 8의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 9의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에서 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 9의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, OX-40 공-자극 도

메인 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, 낙타과 VHH 도메인-GS 링커-VHH 도메인의 비-제한적 개략도를 보여준다. 상기 VHH 도메인은 동일하거나 상이한 도메인일 수 있다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 9의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 9의 C 및 도 9의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 10의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 나타낸다. 도 10의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, OX-40 공-자극 도메인 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VL-위틀로우 링커-VH scFv, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 10의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 10의 C 및 도 10의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 11의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 11의 A는, CD28 힌지, CD28 막관통 도메인, CD28 세포내 도메인, 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VL-위틀로우-VH, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 11의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 11의 C 및 도 11의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 12의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 12의 A는, CD28 힌지, CD28 막관통 도메인, CD28 세포내 도메인, 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VH-GS 링커-VL scFv, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 12의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 12의 C 및 도 12의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 13의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 13의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, 4-1BB 공-자극 도메인, 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VH-GS 링커-VL scFv, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 13의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 13의 C 및 도 13의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 14의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 14의 A는, CD28 힌지, CD28 막관통 도메인, CD28 세포내 도메인, 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VL-Whitlow-VH scFv, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 14의 B는 암호화된 아미노산을 나타낸다. 도 14의 C 및 도 14의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 15의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 15의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, 4-1BB 공-자극 도메인 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VL-위틀로우-VH scFv, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 15의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 15의 C 및 도 15의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 16의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 16의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, 4-1BB 공-자극 도메인, 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VH-GS 링커-VL scFv, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 16의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 16의 C 및 도 16의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 17의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 17의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, 4-1BB 공-자극 도메인, 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VL-위틀로우 링커-VH scFv, (AAA)₂ 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 17의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 17의 C 및 도 17의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 18의 A 내지 D는 예를 들어 BCMA를 표적화하기 위해 본원에 제공된 CAR 구조체의 다양한 비-제한적 구현예의 개략도를 도시한다. 도 18의 A는, CD8 α 힌지, CD8 α 막관통 도메인, CD8 α 세포내 도메인, 4-1BB 공-자극 도메인, 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 갖는, VHH-GS 링커-VHH 구조를 갖는 다중-도메인 낙타과 BCMA 결합제, AAA 스페이스의 비-제한적 개략도를 보여준다. 또한, 본원에 제공된 모든 구현예에서 사용되지는 않았지만, 상기 개략도에는 T2A 자가-절단 펩티드에 이어서 mbIL15를 암호화하는 추가의 뉴클레오티드가 포함된다. 도 18의 B는 암호화된 아미노산을 보여준다. 도 18의 C 및 도 18의 D는 플래그 태그-링커 복합체가 없는 상응하는 구조체의 개략도를 나타낸다.

도 19는 Jurkat 세포에서 CAR 형식의 다양한 비-제한적 실시예의 발현을 도시한 도트 플롯(dot plot)을 보여준다.

도 20은 BMCA-지시된 CAR의 비-제한적 구현예의 기능과 관련된 데이터를 도시한다. 이 도면은 표적 MM.1S 세포를 주르캣 세포와 공-배양하여 본원에 제공된 바와 같은 BCMA-지시된 CAR을 발현시킨 경우의 토닉 활성화(Y축) 대 BCMA-결합 유도된 활성화(X-축)의 평가와 관련된 데이터를 나타낸다. 사용된 이펙터(effector) 대 표적(target)(E:T) 세포 비율은 1:1(주르캣:MM.1S)이었다.

도 21은 본원에서 제공된 CAR의 다양한 비-제한적 구현예의 BCMA-유도된 활성화 대 토닉 활성화의 비율과 관련된 데이터를 나타낸다.

도 22는 CAR의 다양한 클론의 발현(좌측 패널)과 관련된 추가적인 데이터를 보여주며, 각 개별 클론은 서열이 다르지만 공통적인 CAR 구조를 공유한다. 도 22의 우측 패널은 각 클론에 대한 BCMA 결합을 보여준다.

도 23a 및 도 23b는 CAR 발현에 대한 활성의 산포도를 나타낸다. 도 23a는 CAR 발현에 대한 BCMA-결합 유도된 CAR 활성화의 산포도를 나타낸다. 도 23b는 토닉 신호전달 대 CAR 발현의 산포도를 보여준다.

도 24는 CAR 발현에 대한 BCMA 결합의 산포도를 나타낸다.

도 25는 본원에 제공된 다양한 CAR 구조체의 활성화/토닉 신호전달 비율의 산포도를 나타낸다.

도 26a 내지 도 26f는 링커인 이들의 구조의 한 측면에 기반하여 본원에 제공된 CAR의 기능과 관련된 데이터를 나타낸 것이다. 도 26a는 위틀로우 링커 대 GS 링커를 사용한 CARs에 대한 활성화/토닉 신호전달 비율과 관련된 데이터를 보여준다. 도 26b는 위틀로우 링커 대 GS 링커를 사용한 CARs의 발현 데이터를 나타낸다. 도 26c는 VH-VL 형식 대 VL-VH 형식을 사용한 scFv를 사용하여 본원에서 제공된 CAR에 대한 활성화/토닉 신호전달 비율과 관련된 데이터를 보여준다. 도 26d는 VH-VL 형식 대 VL-VH 형식을 사용한 scFv를 사용하여 본원에서 제공된 CAR의 발현과 관련된 데이터를 보여준다. 도 26e는 CD28 도메인(힌지, 막관통 및 세포내)을 이용한 본원에 제공된 CAR 대 OX-40 공-자극 도메인을 갖는 CD8 도메인을 이용한 CAR에 대한 활성화/토닉 신호전달 비율과 관련된 데이터를 나타낸다.

도 27은 하나 이상의 낙타과 VHH 도메인을 사용한 1가 또는 2가 CAR의 발현 및 BCMA 결합 기능과 관련된 요약 데이터를 보여준다.

도 28a 및 도 28b는 하나 이상의 낙타과 VHH 도메인을 사용한 1가 및 2가 CAR의 발현 및 BCMA 결합 기능에 대한 데이터를 나타낸다. 도 28a는 하나 이상의 낙타과 VHH 도메인을 사용한 2가(Y축) 대 1가 CAR에 대한 발현 데이터를 나타낸다. 도 28b는 2가(Y축) 대 1가 VHH-CAR에 대한 BCMA 결합 데이터를 나타낸다.

도 29a 내지 도 29d는 하나 이상의 VHH 도메인을 사용하여 CAR을 발현하는 세포의 다양한 특성을 평가한 것이다. 도 29a는 하나 이상의 VHH 도메인을 포함하는 2가(Y축) 대 1가(X축) CAR에 대한 토닉 신호전달 활성의 산포도를 나타낸다. 도 29b는 2가(Y축) 대 1가(X축) VHH-CAR에 대한 활성화/토닉 신호전달 비율의 산포도를 나타낸다. 도 29c는 선택된 2가(단힌 바)와 1가(개방 바) VHH-CAR에 대한 활성화/토닉 신호전달 비율을 나타내는 히스토그램이다. 도 29d는 선택된 2가(단힌 바)와 1가(열린 바) VHH-CAR에서 검출된 토닉 신호와 관련된 데이터

를 보여준다.

도 30a 및 도 30b는 상이한 CAR 구조체를 비교한 데이터를 보여준다. 도 30a는 scFv(원) 대 VHH-CAR(삼각형) 및 상응하는 대조군(scFv는 정사각형, VHH는 X)을 사용한 CAR에 대한 토닉 신호전달 대 발현의 산포도를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0044] 본원에 제공된 방법 및 조성물의 일부 구현에는 항-BCMA 결합 모이어티에 관한 것이다. 또한 본원에서는 항-BCMA 결합 모이어티 중의 임의의 것을 포함하는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체(CAR)가 개시된다. 일부 구현예에서, 상기 CAR은 본원에 기재된 바와 같은 세포 상에서 발현된다. 일부 구현예는 면역요법에서 조성물 또는 세포의 사용 방법을 포함한다. 일부 구현예는 자연 살해(Natural Killer; NK) 세포에서 발현되는 항-BCMA CAR의 사용에 관한 것이다.
- [0045] 용어 "항종양 효과(anticancer effect)"는, 종양 부피의 감소, 암 세포 수의 감소, 전이 수의 감소, 기대 수명의 증가, 암 세포 증식의 감소, 암 세포 생존의 감소 또는 암 상태와 관련된 다양한 생리적 증후의 개선을 포함하나 이에 국한되지 않는 다양한 방법으로 나타낼 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. "항종양 효과(anticancer effect)"는 우선 암 발생의 예방에서 CAR의 능력으로 또한 나타낼 수 있다.
- [0046] 세포 유형
- [0047] 본원에 제공된 방법 및 조성물의 일부 구현에는 면역 세포와 같은 세포와 관련된다. 예를 들어 면역 세포는 키메라 항원 수용체 예를 들어 BCMA-지시된 CAR을 포함하도록 조작될 수 있거나, 또는 본원에 기재된 상기 CAR을 암호화하는 핵산을 포함하도록 조작될 수 있다.
- [0048] 전통적인 항암 요법은 외과적 접근, 방사선 요법, 화학 요법 또는 상기 방법들의 병용에 의존했다. 연구가 특정 암의 메커니즘 중 일부에 대한 보다 많은 이해를 이끌어 내면서, 상기 지식은 표적화된 암 요법을 개발하는 데 활용되었다. 표적화된 요법은, 암 세포 또는 (혈관 세포와 같이) 암 성장을 지원하는 세포에서 발견된 특정 유전자 또는 단백질을 표적화하여 암 세포 성장을 감소 또는 저지하는 특정 약물을 이용하는 암 치료이다. 보다 최근에, 유전자 조작은 암과 싸우는 면역 시스템의 특정 측면을 이용하는 접근법의 개발을 가능하게 했다. 일부 경우에, 환자 자신의 면역 세포가 변형되어 상기 환자의 암 유형을 특이적으로 근절한다. 다양한 유형의 면역 세포, 예를 들어 본원에서 보다 상세하게 기재된 바와 같은 T 세포 및/또는 자연 살해(NK 세포)가 사용될 수 있다.
- [0049] 암 면역요법을 용이하게 하기 위해, 표적 결합 모이어티 (예를 들어 암 세포에 의해 발현된 리간드, 예를 들어 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체의 세포 외 바인더) 및 세포 독성 신호전달 복합체를 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 폴리펩티드 및 벡터가 여기에 제공된다. 일부 구현예는 암 세포에 대한 면역 세포의 표적화 및 암 세포 상에서 세포 독성 효과를 발휘하는 것을 용이하게 하는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 폴리펩티드 및 벡터를 포함한다. 상기 CAR을 발현하는 조작된 면역 세포(예를 들어 T 세포 및/또는 NK 세포)가 또한 제공된다. 몇몇 구현예에서, 2개 이상의 서브도메인, 및 세포 독성 신호전달 복합체를 포함하는 세포 외 도메인을 포함하는 구조체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 폴리펩티드 및 벡터가 또한 본원에서 제공된다. 상기 이중 특이적 구조체를 발현하는 조작된 면역 세포(예를 들어 T 세포 및/또는 NK 세포)가 또한 제공된다. 암을 치료하는 방법 및 암 면역요법을 위한 상기 세포의 기타 용도가 여기에 또한 제공된다.
- [0050] 면역요법을 위한 조작된 세포
- [0051] 몇몇 구현예에서, 면역 시스템의 세포가 조작되어 종양 세포와 같은 표적 세포에 대한 세포 독성 효과가 향상되었다. 예를 들어 면역 시스템의 세포가 조작되어 본원에 기재된 바와 같은 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 포함할 수 있다. 몇몇 구현예에서, 백혈구(white blood cells) 또는 백혈구(leukocytes)의 고유 기능(native function)이 비정상적인 세포의 성장 및 감염성 질병에 대해 몸을 방어하는 것이기 때문에, 상기 세포들이 사용된다. 인간 면역 시스템에서 특정 역할을 하고, 따라서 본원에 개시된 세포의 조작을 위한 바람직한 출발점인 다양한 유형의 백혈구가 존재한다. 백혈구는 과립구 및 무과립구(각각 세포질에 과립의 존재 또는 부재)를 포함한다. 과립구는 호염구, 호산구, 호중구 및 비만 세포를 포함한다. 무과립구는 림프구 및 단핵구를 포함한다. 하기 또는 달리 본원에 기재된 것과 같은 세포가 조작되어 BCMA-지시된 항원 키메라 항원 수용체와 같은 키메라 수용체 또는 상기 키메라 항원 수용체를 암호화하는 핵산을 포함할 수 있고/거나 조작되어 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15) 공-자극 도메인을 공발현할 수 있다.

[0052] 면역요법을 위한 단핵구

[0053] 단핵구는 백혈구의 하위 유형이다. 단핵구는 대식세포 및 골수계 수지상 세포로 분화할 수 있다. 단핵구는 적응 성 면역 시스템과 연관되고, 식균 작용, 항원 제시 및 사이토카인 생성의 주요 기능을 제공한다. 식균 작용은 세포성 물질 또는 전체 세포의 흡수 뒤 에워싸인 세포성 물질의 소화 및 파괴 과정이다. 몇몇 구현예에서, 단핵구는 본원에 개시된 바와 같은 하나 이상의 추가 조작된 세포와 관련하여 사용된다. 본원에 기재된 방법 및 조성물의 일부 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 또는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 암호화하는 핵산을 포함하는 단핵구와 관련된다. 본원에 개시된 방법 및 조성물의 몇몇 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 및 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15) 공-자극 도메인을 발현하도록 조작된 단핵구와 관련된다.

[0054] 면역요법을 위한 림프구

[0055] 림프구, 백혈구의 기타 주요 하위 유형은, T 세포(세포 매개, 세포 독성 적응성 면역), 자연 살해 세포(세포 매개, 세포 독성 선천성 면역) 및 B 세포(체액성, 항체 구동 적응성 면역)를 포함한다. B 세포가 본원에 개시된 몇몇 구현예에 따라 조작되는 반면, 몇몇 구현예는 조작된 T 세포 또는 조작된 NK 세포와 또한 관련된다(T 세포 및 NK 세포의 혼합물이 일부 구현예에서 사용된다). 본원에 기재된 방법 및 조성물의 일부 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 또는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 암호화하는 핵산을 포함하는 림프구와 관련된다. 본원에 개시된 방법 및 조성물의 몇몇 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 및 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15) 공-자극 도메인을 발현하도록 조작된 림프구와 관련된다.

[0056] 면역요법을 위한 T 세포

[0057] T 세포는 세포 표면 상의 T 세포 수용체의 존재에 근거하여 다른 림프구 하위 유형(예를 들어 B 세포 또는 NK 세포)과 구별 가능하다. T 세포는, 이펙터 T 세포, 헬퍼 T 세포, 세포 독성 T 세포, 기억 T 세포, 조절 T 세포, 자연 살해 T 세포, 점막 관련 불변 T 세포 및 감마 델타 T 세포를 포함한 다양한 상이한 하위 유형으로 나뉘어 질 수 있다. 일부 구현예에서, T 세포 중 특정 하위 유형이 조작된다. 일부 구현예에서, T 세포 하위 유형의 혼합 풀이 조작된다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 세포 독성 수용체 복합체를 발현하도록 조작된 T 세포 유형의 특정 선택이 존재하지 않는다. 몇몇 구현예에서, 사이토카인 자극의 사용과 같은 특정 기술이 사용되어 특정 마커 프로필을 갖는 T 세포의 증폭/수집이 향상된다. 예를 들어 몇몇 구현예에서, 특정 인간 T 세포, 예를 들어 CD4+ T 세포, CD8+ T 세포의 활성화가 자극 분자로서 CD3 및/또는 CD28의 사용을 통해 달성된다. 몇몇 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 세포 독성 수용체 복합체 및/또는 귀소 모이어티를 발현하는 치료적 유효량의 T 세포를 투여하는 것을 포함한 암 또는 감염성 질병을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 몇몇 구현예에서, 조작된 T 세포는 자가 조직 세포인 반면, 일부 구현예에서 T 세포는 동종 이계 세포이다. 본원에 기재된 방법 및 조성물의 일부 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 또는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 암호화하는 핵산을 포함하는 T 세포와 관련된다. 본원에 개시된 방법 및 조성물의 몇몇 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 및 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15) 공-자극 도메인을 발현하도록 조작된 T 세포와 관련된다.

[0058] 면역요법을 위한 NK 세포

[0059] 몇몇 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 세포 독성 수용체 복합체 및/또는 귀소 모이어티를 발현하는 치료적 유효량의 자연 살해(NK) 세포를 투여하는 것을 포함한 암 또는 감염성 질병을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 몇몇 구현예에서, 조작된 NK 세포는 자가 조직 세포인 반면, 일부 구현예에서 NK 세포는 동종 이계 세포이다. 몇몇 구현예에서, NK 세포의 자연 세포 독성 포텐셜(natural cytotoxic potential)이 상대적으로 높기 때문에 NK 세포가 선호된다. 몇몇 구현예에서, 본원에 개시된 조작된 세포가 NK 세포의 세포 독성 활성을 더욱 상향 조절할 수 있어서 표적 세포(예를 들어 종양 세포 또는 기타 질병 세포)에 대해 훨씬 더 효과적인 활성으로 이어진 것은 예상치 못하게 유리하다. 몇몇 구현예에서, NK 세포의 높은 정도의 급성 세포독성(본원에 개시된 조작 방법에 의해 더욱 강화됨)은 특히 효과적인 세포치료제 조성물을 제공하는데 활용된다. 본원에서 기재된 방법 및 조성물의 일부 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 또는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 암호화하는 핵산을 포함하는 NK와 관련된다. 본원에서 개시된 방법 및 조성물의 몇몇 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 및 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15) 공-자극 도메인을 발현하도록 조작된 NK 세포와 관련된다. 일부 구현예에서, NK 세포는 세포주 NK-92로부터 유래된다. NK-92 세포는 NK 세포로부터 유래되지만, 활성화 수용체의 대부분을 유지하면서, 정상 NK 세포에 의해 나타나는 주요 억제 수용체는 결여되어 있다. 특성의 추가적인 억제 수용체, 예를 들어 SMAD3를 침묵시키도록 조작된 NK-92 세포와 관련된 본 명세서에 기재된 NK-92 세포의 일부 구현예는 인터페론- γ (IFN- γ), 그랜자임(granzyme) B 및/또는 퍼포린(perforin) 생산의 상향조절을 허용한다. NK-92 세포주에 관한 추가적인 정보는 국제공개공보 WO 1998/49268 및 미국특허공개공보 2002/0068044에

개시되어 있고, 그 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다. NK-92 세포는, 몇몇 구현예에서, 본원에 개시된 다른 세포 유형 중의 하나 이상과 조합하여 사용된다. 예를 들어 한 구현예에서, NK-92 세포는 본원에 개시된 바와 같이 NK 세포와 조합하여 사용된다. 추가적인 구현예에서, NK-92 세포는 본원에 개시된 바와 같이 T 세포와 조합하여 사용된다.

[0060] 암 면역요법을 위한 조혈 줄기 세포

[0061] 일부 구현예에서, 조혈 줄기 세포(hematopoietic stem cell, HSC)가 본원에 개시된 면역요법의 방법에 사용된다. 몇몇 구현예에서, 세포가 조작되어 귀소 모이어티 및/또는 세포 독성 수용체 복합체를 발현한다. 몇몇 구현예에서, HSC가 사용되어 장기 혈액 세포 생성을 위해 이의 이식 능력이 활용되며, 이는 예를 들어 암 진정과 싸우는 표적화된 항암 이펙터 세포의 지속적인 공급원을 초래할 수 있다. 몇몇 구현예에서, 상기 지속적인 생성은, 예를 들어 종양 미세 환경에 기인한 기타 세포 유형의 아네르기 또는 고갈을 상쇄하도록 돕는다. 몇몇 구현예에서, 동종이계 HSC가 사용되는 반면, 일부 구현예에서 자가 조직 HSC가 사용된다. 몇몇 구현예에서, HSC는 본원에 개시된 하나 이상의 추가 조작된 세포 유형과 조합물로 사용된다. 본원에 기재된 방법 및 조성물의 일부 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 또는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 암호화하는 핵산을 포함하는 줄기 세포, 예를 들어 조혈 줄기 세포와 관련된다. 본원에 개시된 방법 및 조성물의 몇몇 구현예는 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 및 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15) 공-자극 도메인을 발현하도록 조작된 줄기 세포, 예를 들어 조혈 줄기 세포와 관련된다.

[0062] 암 면역요법을 위한 유도된 만능 줄기 세포

[0063] 일부 구현예에서, 유도된 만능 줄기 세포(induced pluripotent stem cell, iPSC)는 본원에 개시된 면역요법의 방법에서 사용된다. iPSC는, 몇몇 구현예에서, CD34 세포, 조혈 내피 세포(hemogenic endothelium cell), HSC (조혈 줄기 및 전구 세포), 조혈 다능성 전구 세포, T 세포 전구, NK 세포 전구, T 세포, NKT 세포, NK 세포, 및 B 세포를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 비-만능 세포로 분화하고 유도하는 이들의 능력을, 동일한 선택된 부위에서 동일한 유전자 변형을 포함하는 덜 분화된 세포 또는 iPSC를 분화시키는 것을 통해 레버리지하기 위해 사용된다. 몇몇 구현예에서, iPSC는 iPSC-유도된 NK 또는 T 세포를 생성하기 위해 사용된다. 몇몇 구현예에서, 세포는 호밍 모이어티 및/또는 세포독성 수용체 복합체를 발현하도록 조작된다. 몇몇 구현예에서, iPSC는 본원에 개시된 하나 이상의 추가적인 조작된 세포 유형과 조합하여 사용된다. 본원에 개시된 방법 및 조성물의 몇몇 구현예는 줄기 세포, 예를 들어 본원에 개시된 다른 것들 중 임의의 것 중에서, 종양 마커, 예를 들어 CD19, CD123, CD70, Her2, 메소텔린, 클라우딘 6, BCMA, EGFR을 표적화하는 CAR을 발현하도록 조작된 유도된 만능 줄기 세포, 및 선택적으로 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15) 공-자극 도메인에 관한 것이다. 본원에 개시된 방법 및 조성물의 몇몇 구현예는 종양 세포, 예를 들어 MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, ULBP3, ULBP4, ULBP5, 및 ULBP6(특히) 상의 리간드를 표적화하는 활성화 키메라 수용체를 발현하도록 조작된 유도된 만능 줄기 세포, 및 선택적으로 막-결합된 인터류킨 15(mbIL15) 공-자극 도메인에 관한 것이다.

[0064] 면역 세포의 유전자 조작

[0065] 상기 논의된 바와 같이, 다양한 세포 유형이 세포 면역요법에서 이용될 수 있다. 추가로, 하기 더 상세히 설명되고 실시예에 도시된 바와 같이, 유전자 변형은 이들의 효능(예를 들어 세포독성) 및/또는 지속성(예를 들어 활성 수명)의 하나 이상의 측면을 향상시키기 위해 이들 세포에 대해 이루어질 수 있다. 본 명세서에 논의된 바와 같이, 몇몇 구현예에서 NK 세포는 면역요법을 위해 사용된다. 본 명세서에 제공된 몇몇 구현예에서, NK 세포의 유전자 편집은 유리하게는 종양 미세환경에서 생성되는 다양한 억제 신호에 저항하고/하거나 극복하는 능력을 편집된 NK 세포에 부여할 수 있다. 종양은 면역 세포의 항-종양 효과를 감소시키는 것으로 의도되는 다양한 신호전달 분자를 생성하는 것으로 공지되어 있다. 하기 보다 상세히 논의되는 바와 같이, 몇몇 구현예에서, NK 세포의 유전자 편집은 NK 세포, T 세포, NK 및 T 세포의 조합, 또는 본원에 제공된 임의의 편집된/조작된 면역 세포에 대한 이러한 종양 미세환경 억제 효과를 제한한다. 하기 논의되는 바와 같이, 몇몇 구현예에서, 유전자 편집은 예를 들어 단백질을 암호화하는 표적 유전자를 파괴함으로써 표적 단백질의 발현을 감소시키거나 녹아웃시키는데 사용된다. 몇몇 구현예에서, 유전자 편집은 표적 단백질의 발현을 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 그 초과 (열거된 것들 사이의 임의의 양을 포함함)만큼 감소시킬 수 있다. 몇몇 구현예에서, 유전자는 완전히 녹아웃되어, 표적 단백질의 발현은 검출가능하지 않다. 몇몇 구현예에서, 유전자 편집은 표적 단백질의 발현을 "녹 인(knock in)" 또는 달리 향상시키기 위해 사용된다. 몇몇 구현예에서, 표적 단백질의 발현은 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 또는 그 초과 (열거된 것들 사이의

임의의 양을 포함함)만큼 향상될 수 있다.

[0066] 비-제한적인 예로서, TGF-베타는 종양 미세환경 내에서 면역 억제를 초래하는 종양 세포에 의해 방출된 하나의 이러한 사이토카인이다. 이러한 면역 억제는 면역 세포, 심지어 조작된 CAR-면역 세포의 능력을 감소시켜, 종양 세포를 파괴하고, 따라서 종양 진행을 허용한다. 몇몇 구현예에서, 아래에서 상세히 논의되는 바와 같이, 면역 체크포인트 저해제는 유전자 편집을 통해 파괴된다. 몇몇 구현예에서, 신호전달 분자의 면역 세포를 결합하고 저해하는 능력을 감소시키는 이들의 방출의 차단제 또는 경쟁적 저해제를 포함하는, 종양 미세환경에서 면역 억제 사이토카인의 차단제가 사용된다. 이러한 신호전달 분자는 TGF-베타, IL10, 아르기나제(arginase), 유도성 NOS, 반응성-NOS, Arg1, 인돌아민 2,3-디옥시게나제(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO), 및 PGE₂를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 그러나, 추가적인 구현예에서, NK 세포와 같은 면역 세포가 제공되며, 상기 소정의 면역억제 신호전달 분자에 반응하는 NK 세포(또는 다른 세포)의 능력은 파괴되고/되거나 제거된다. 예를 들어 몇몇 구현예에서, NK 세포 또는 T 세포는 TGF-베타에 대한 감소된 민감성을 갖도록 유전적으로 편집된다. TGF-베타는 적어도 증식 및 세포독성의 수준에 대한 NK 세포 기능의 저해제이다. 예를 들어 TGF-베타가 NK 세포 활성화 및/또는 증식을 감소시키는 저해 경로 중 일부를 개략적으로 도시하는 도 8의 A를 참조한다. 따라서, 일부 구현예에 따르면, TGF-베타 수용체의 발현은 유전자 편집을 통해 녹다운 또는 녹 아웃되어, 편집된 NK가 종양 미세환경에서 TGF-베타의 면역억제 효과에 대해 저항성을 갖게 된다. 몇몇 구현예에서, TGFβ2 수용체는 예를 들어 CRISPR-Cas 편집의 사용에 의해 유전자 편집을 통해 녹다운 또는 녹 아웃된다. 짧은 간섭 RNA, 안티센스 RNA, TALEN 또는 징크 핑거가 다른 구현예에서 사용된다. TGF-베타 수용체의 다른 이소형(예를 들어 TGF-베타 1 및/또는 TGF-베타 3)이 일부 구현예에서 편집된다. 몇몇 구현예에서, T 세포에서 TGF-베타 수용체는 유전자 편집을 통해 녹다운된다.

[0067] 추가적인 구현예에 따르면, NK 세포(또는 T 세포) 기능의 하나 이상의 측면의 다른 조절제(modulator)는 유전자 편집을 통해 조절된다. 다양한 사이토카인은 음성(상기 TGF-베타와 같음) 또는 면역 세포에 양성 신호를 부여한다. 비-제한적인 예로서, IL15는 본원에 개시된 바와 같은 NK 세포의 양성 조절인자이며, 이는 NK 세포 호밍, NK 세포 이동, NK 세포 증폭/증식, NK 세포 세포독성, 및/또는 NK 세포 지속성 중의 하나 이상을 향상시킬 수 있다. NK 세포를 정상 생리학적 환경 하에 체크로 유지하기 위해, 사이토카인-유도성 SH2-함유 단백질(CIS, CISH 유전자에 의해 암호화됨)은 NK 세포에서 IL-15 신호전달의 중요한 음성 조절인자로서 작용한다. 본원에 논의된 바와 같이, IL15 생물학은 특히 증식/증폭, 활성화, 세포독성, 지속성, 호밍, 이동을 포함하나 이에 제한되지는 않는 NK 세포 기능성의 다수의 측면에 영향을 미친다. 따라서, 몇몇 구현예에 따르면, CISH의 편집은 다수의 기능성에 걸쳐 NK 세포의 기능성을 향상시켜, 보다 효과적이고 오래 지속되는 NK 세포 치료제로 이어진다. 몇몇 구현예에서, CIS의 억제제는 조작된 NK 세포 투여와 함께 사용된다. 몇몇 구현예에서, CIS 발현은 예를 들어 CRISPR-Cas 편집의 사용에 의해 CISH 유전자의 유전자 편집을 통해 녹다운 또는 녹 아웃된다. 짧은 간섭 (small interfering) RNA, 안티센스 RNA, TALEN 또는 징크 핑거가 다른 구현예에서 사용된다. 일부 구현예에서, T 세포에서 CIS 발현은 유전자 편집을 통해 녹다운된다.

[0068] 몇몇 구현예에서, CISH 유전자 편집은 표적 부위에 호밍하는 능력이 향상된 NK 세포를 제공한다. 몇몇 구현예에서, CISH 유전자 편집은 예를 들어 화학유인물질 또는 방충제(repellant)에 반응하여 조직 내에서 예를 들어 이동할 능력이 향상된 NK 세포를 제공한다. 몇몇 구현예에서, CISH 유전자 편집은 활성화될 능력이 향상된 NK 세포를 제공하고, 따라서 예를 들어 항종양 효과를 발휘한다. 몇몇 구현예에서, CISH 유전자 편집은 증식 능력이 향상된 NK 세포를 제공하고, 이는 몇몇 구현예에서 공여자 혈액 샘플로부터 강력한 NK 세포 수의 생성을 가능하게 한다. 또한, 이러한 구현예에서, CISH에 대해 편집되고 CAR을 발현하도록 조작된 NK 세포는 배양에서 보다 용이하게, 강력하게, 그리고 일관되게 증폭된다. 몇몇 구현예에서, CISH 유전자 편집은 세포독성이 향상된 NK 세포를 제공한다. 몇몇 구현예에서, CISH의 편집은 CAR을 발현하는 조작된 NK 세포 및/또는 조작된 T 세포의 세포독성 효과를 상승작용적으로 향상시킨다.

[0069] 몇몇 구현예에서, CISH 유전자 편집은 매우 다양한 경로를 활성화 또는 억제한다. CIS 단백질은 예를 들어 JAK-STAT 신호전달 경로를 억제하는 것에 의해 IL15 신호전달의 음성 조절인자이다. 이들 경로는 전형적으로 IL15-반응성 유전자(CISH를 포함함)의 전사를 유도할 것이다. 몇몇 구현예에서, CISH의 녹다운은 JAK-STAT (예를 들어 JAK1-STAT5) 신호전달을 저해하고, IL15-반응성 유전자의 전사가 향상된다. 몇몇 구현예에서, CISH의 녹 아웃은 라파마이신의 포유동물 표적(mammalian target of rapamycin, mTOR)을 통해 향상된 신호전달을 산출하고, 세포 대사 및 호흡과 관련된 유전자의 발현의 상응하는 증가를 갖는다. 몇몇 구현예에서, CISH의 녹 아웃은 IL15가 IL-2Rα (CD25)의 증가된 발현을 유도하지만, IL-15Rα 또는 IL-2/15Rβ는 유도하지 않고, IL15 및/또는 IL2의 향상된 NK 세포 막 결합, STAT-3 및/또는 STAT-5의 증가된 인산화, 및 항아포토시스 단백질, 예를 들어

Bcl-2의 상승된 발현을 산출한다. 몇몇 구현예에서, CISH 녹아웃은 미토콘드리아 기능 (예를 들어 전자 전달계 (electron transport chain) 및 세포 호흡) 및 세포 주기와 관련된 선택된 유전자의 IL15-유도된 상향조절을 초래한다. 따라서, 몇몇 구현예에서, 유전자 편집에 의한 CISH의 녹아웃은 적어도 부분적으로 대사 재프로그래밍을 통해 NK 세포 세포독성 및/또는 지속성을 향상시킨다. 몇몇 구현예에서, 세포 대사, 예를 들어 TXNIP의 음성 조절인자는 CISH 녹아웃에 반응하여 하향조절된다. 몇몇 구현예에서, BIRC5(Survivin), TOP2A, CKS2, 및 RACGAP1을 포함하는 세포 생존 및 증식에 대한 프로모터는 CISH 녹아웃 후에 상향조절되는 반면, 항증식성 또는 아포토시스 단백질, 예를 들어 TGFβ1, ATM, 및 PTCH1은 하향조절된다. 몇몇 구현예에서, CISH 녹아웃은 CXCL10, IL2, TNF, IFNγ, IL13, IL4, Jnk, PRF1, STAT5, PRKCQ, IL2 수용체 베타, SOCS2, MYD88, STAT3, STAT1, TBX21, LCK, JAK3, IL-6 수용체, ABL1, IL9, STAT5A, STAT5B, Tcf7, PRDM1, 및/또는 EOMES 중의 하나 이상을 통해 또는 이들 중의 하나 이상을 통해 신호전달을 변경(예를 들어 활성화 또는 비활성화)한다.

[0070] 몇몇 구현예에서, 면역 세포의 유전자 편집은 또한 편집된 면역 세포의 증폭, 지속성 및/또는 세포독성에서 예기치 않은 향상을 제공할 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 조작된 세포(예를 들어 CAR을 발현하는 세포)는 또한 편집될 수 있으며, 이의 조합은 면역요법을 위한 강건한 세포를 제공한다. 몇몇 구현예에서, 편집은 예기치 않게 개선된 NK 세포 증폭, 지속성 및/또는 세포독성을 허용한다. 몇몇 구현예에서, NK 세포에서 CISH 발현의 녹아웃은 NK 세포에서 IL15-매개된 신호전달의 강력한 음성 조절인자를 제거하고, NK 세포를 저해하고, 향상된 NK 세포 호밍, NK 세포 이동, NK 세포의 활성화, 증폭, 세포독성 및/또는 지속성 중의 하나 이상을 허용한다. 추가적으로, 몇몇 구현예에서, 편집은 그렇지 않으면 억제성 종양 미세환경에서 NK 및/또는 T 세포 기능을 향상시킬 수 있다. 몇몇 구현예에서, CISH 유전자 편집은 외인성으로 제공되는 노치 리간드를 필요로 하지 않으면서 향상된 NK 세포 증폭, 지속성 및/또는 세포독성을 초래한다.

[0071] 몇몇 구현예에서, 유전자 편집은 다양한 조작된 뉴클레아제 중의 하나 이상에 의해 달성된다. 몇몇 구현예에서, 특히 이중 가닥 절단이 다중 영역에서 요구되는 경우에, 제한 효소가 사용된다. 몇몇 구현예에서, 생조작된 뉴클레아제가 사용된다. 구현예에 따라, 징크 핑거 뉴클레아제 (Zinc Finger Nuclease, ZFN), 전사 활성화인자-유사 이펙터 뉴클레아제(transcription-activator like effector nuclease, TALEN), 메가뉴클레아제 및/또는 클러스터된 규칙적으로 이격된 짧은 회문 반복(clustered regularly interspaced short palindromic repeat, CRISPR/Cas9) 시스템 중의 하나 이상이 CD70 및/또는 CISH와 같은 하나 이상의 표적 단백질을 암호화하는 유전자를 특이적으로 편집하기 위해 사용된다.

[0072] 몇몇 구현예에서, 유전자 편집은 다양한 조작된 뉴클레아제 중의 하나 이상에 의해 달성된다. 몇몇 구현예에서, 특히 이중 가닥 절단이 다중 영역에서 요구되는 경우에, 제한 효소가 사용된다. 몇몇 구현예에서, 생조작된 뉴클레아제가 사용된다. 구현예에 따라, 징크 핑거 뉴클레아제 (Zinc Finger Nuclease, ZFN), 전사 활성화인자-유사 이펙터 뉴클레아제(transcription-activator like effector nuclease, TALEN), 메가뉴클레아제 및/또는 클러스터된 규칙적으로 이격된 짧은 회문 반복(clustered regularly interspaced short palindromic repeat, CRISPR/Cas9) 시스템 중의 하나 이상이 TCR 서브유닛(subunits)의 하나 이상의 표적 단백질을 암호화하는 유전자를 특이적으로 편집하기 위해 사용된다.

[0073] 메가뉴클레아제는 큰 DNA 서열(14 내지 40개의 염기 쌍)을 인식하고 절단하는 이의 능력을 특징으로 한다. 몇몇 구현예에서, LAGLIDADG 패밀리를 비롯한 메가뉴클레아제가 사용되고, 특유한 서열(들), 예를 들어 TCR, 또는 CISH, 또는 본원에 개시된 임의의 다른 표적 유전자에서의 특정 부위를 인식하는 메가뉴클레아제 변이체를 생성하기 위해 돌연변이 유발 및 스크리닝에 적용된다. TCR 내의 표적 부위들은 용이하게 식별될 수 있다. TCR의 영역 내의 표적 부위들에 대한 추가적인 정보는 미국특허공개공보 2018/0325955 및 미국특허공개공보 2005/0017136에서 찾을 수 있으며, 이들 문헌 각각은 그 전체가 본원에서 참조로 포함된다. 몇몇 구현예에서, 2개 이상의 메가뉴클레아제, 또는 이의 기능적 단편이 융합되어 표적 유전자(예를 들어 CISH) 내의 원하는 표적 서열을 인식하는 하이브리드 효소를 생성한다.

[0074] 메가뉴클레아제와 대조적으로, ZFN 및 TALEN은 징크 핑거 또는 전사 활성화제-유사 이펙터(transcription activator-like effector, TALE)와 같은 펩티드를 인식하는 특정 DNA 서열에 연결된 비-특이적 DNA 절단 촉매 도메인에 기초한 기능을 한다. 유리하게는, ZFN 및 TALEN은 따라서 표적 인식에서 고도의 서열-특이성을 갖는 DNA의 서열-독립적 절단을 허용한다. 징크 핑거 모터프는 전사를 위한 특정 DNA 서열을 인식하기 위해 전사 인자에서 자연적으로 기능한다. 각각의 핑거의 C-말단 부분은 DNA 서열의 특정 인식을 담당한다. ZFN에 의해 인식된 서열은 비교적 짧지만 (예를 들어, ~3개의 염기 쌍), 몇몇 구현예에서, 인식 부위가 특성화되는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 징크 핑거의 조합이 사용되어, 특정 서열, 예를 들어 TCR(또는 면역 관문 억제제 (immune checkpoint inhibitor))의 일부의 표적화를 허용한다. 이어서, 조합된 ZFN은 표적화된 DNA 절단을 유

도하기 위해 엔도뉴클레아제, 예를 들어 FokI(선택적으로 FokI 헤테로다이어머(heterodimer))의 촉매 도메인(들)과 융합된다. TCR 및/또는 면역 관문 억제제를 편집하기 위한 ZFN의 사용에 대한 추가적인 정보는 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 9,597,357에서 찾을 수 있다.

[0075] 전사 활성화인자-유사 이펙터 뉴클레아제 (TALEN)는 33 또는 34개 아미노산 반복의 배열(array)을 특징으로 하는 특이적 DNA-결합 단백질이다. ZFN과 같이, TALEN은 뉴클레아제의 DNA 절단 도메인의 TALE 도메인(들)에 융합이며, 이는 고도로 정밀한 표적 부위 인식으로 이중 가닥 DNA 절단의 서열-독립적 도입을 가능하게 한다. TALEN은 오류 발생하기 쉬운(error-prone) 비-상동성 말단-접합 (non-homologous end-joining, NHEJ)에 의해 복구될 수 있는 표적 부위에서 이중 가닥 절단을 생성하여, 작은 삽입 또는 결실의 도입을 통한 유전자 파괴를 초래할 수 있다. 유리하게는, TALEN은 적어도 부분적으로는 DNA 결합에서의 이의 더 높은 특이성, 감소된 오프-표적(off-target) 효과, 및 DNA-결합 도메인의 구조의 용이함으로 인해 몇몇 구현예에서 사용된다.

[0076] CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat)은 박테리아가 바이러스에 대한 보호로서 사용하는 유전 요소이다. 반복은 바이러스 게놈으로부터 유래되고 박테리아 게놈 내로 혼입된 짧은 서열이다. Cas(CRISPR 연관 단백질)는 이들 서열을 프로세싱하고 매칭 바이러스 DNA 서열을 절단한다. Cas 유전자를 포함하고 구체적으로 구축된 CRISPR을 진행 세포 내로 도입함으로써, 진행 게놈은 임의의 원하는 위치에서 절단될 수 있다. CRISPR에 대한 추가적인 정보는 본원에 참조로 포함되는 미국특허공개공보 2014/0068797에서 찾을 수 있다. 몇몇 구현예에서, CRISPR은 녹 아웃(knock out) 또는 녹 인(knock in)되는 표적 유전자, 예를 들어 CISH, TGFBR2, TCR, B2M, CIITA, CD47, HLA-E 등을 암호화하는 유전자(들)을 조작(manipulate)하는데 사용될 수 있다. 몇몇 구현예에서, CRISPR은 T 세포의 TCR 및/또는 하나 이상의 면역 관문 억제제를 암호화하는 유전자 중의 하나 이상을 편집하는데 사용된다. 몇몇 구현예에서, 상기 면역 관문 억제제는 CTLA4 및 PD1 중의 하나 이상으로부터 선택된다. 몇몇 구현예에서, 상기 CRISPR은 TCR α , TCR β , TCR γ 및 TCR δ 중의 하나 이상을 절단하는데 사용된다. 몇몇 구현예에서, TCR은 TCR의 CD3z 신호전달 도메인의 기능에 영향을 주지 않고 절단된다. 상기 구현예에 따라 그리고 어느 표적 유전자를 편집할 것인지에 따라, 클래스 1 또는 클래스 2 Cas가 사용된다. 몇몇 구현예에서, 클래스 1 Cas가 사용되고, 상기 Cas 유형은 하기 유형: I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IU, III, IIIA, IIIB, IIIC, IIID, IVA, IVB, 및 이의 조합으로부터 선택된다. 몇몇 구현예에서, Cas는 Cas3, Cas8a, Cas5, Cas8b, Cas8c, Cas10d, Cse1, Cse2, Csy1, Csy2, Csy3, GSU0054, Cas10, Csm2, Cmr5, Cas10, Csx11, Csx10, Csf1, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다. 몇몇 구현예에서, 클래스 2 Cas가 사용되고, Cas 유형은 하기 유형: II, IIA, IIB, IIC, V, VI, 및 이의 조합으로부터 선택된다. 몇몇 구현예에서, Cas는 Cas9, Csn2, Cas4, Cpf1, C2c1, C2c3, Cas13a (이전에 C2c2로 공지됨), Cas13b, Cas13c, CasX, CasY, 및 이의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다. 몇몇 구현예에서, 클래스 2 CasX가 사용되고, 상기 CasX는 가이드 핵산과의 복합체를 형성할 수 있고, 복합체는 표적 DNA에 결합할 수 있고, 표적 DNA는 비-표적 가닥 및 표적 가닥을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 클래스 2 CasY가 사용되고, 상기 CasY는 표적 핵산 및/또는 표적 핵산과 연관된 폴리펩티드에 결합하고 그를 변형시킬 수 있다.

[0077] 세포 외 도메인(결합 모이어티)

[0078] 본원에 기재된 조성물 및 방법의 일부 구현예는 세포 외 도메인을 포함하는, 키메라 항원 수용체, 예를 들어 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체와 관련된다. 일부 구현예에서, 세포 외 도메인은 본원에 기재된 바와 같은 종양 항원에 표적화될 수 있는 결합 모이어티(항원-결합 단백질 또는 결합 모이어티로도 지칭됨)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 결합 모이어티는 항체, 항체 단편, scFv, Fv, Fab, (Fab')₂, 단일 도메인 항체(single domain antibody, sdAB), VH 또는 VL 도메인, 낙타과 VH8 도메인 또는 비면역 글로불린 스캐폴드, 예를 들어 DARPIN, 아피바디, 아필린, 애드벡틴, 아피틴, 레페바디, 피노머, 알파바디, 아비머, 아트리머, 센티린, 프로넥틴, 안티칼린, 쿠니츠 도메인, 아르마딜로 반복 단백질, 자가항원, 수용체 또는 리간드의 야생형 또는 비야생형 서열에서 유래되거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 결합 모이어티는 하나 이상의 항원-결합 도메인을 함유한다. 구현예에서, 상기 결합 모이어티는 TCR 도메인(예를 들어 TCR-알파, TCR-베타, TCR-베타2, 전-TCR-알파, 전-TCR-알파-De148, TCR-감마 또는 TCR-델타의 불변 사슬)의 NH₂-말단 끝에 직접 또는 선택적인 링커를 통해 작동 가능하게 연결된다.

[0079] 몇몇 구현예에서, 결합 모이어티(항원-결합 단백질로도 지칭됨)이 제공된다. 여기에 사용된 바와 같은 용어 "결합 모이어티"에는 통상적인 의미가 부여될 것이며, 항원에 결합하는 항원-결합 단편 및 선택적으로 항원-결합 단편이 항원에 대한 결합 모이어티의 결합을 촉진하는 구조를 채택하게 하는 스캐폴드 또는 프레임워크 부분을 포함하는 단백질을 또한 지칭할 것이다. 일부 구현예에서, 항원은 암 항원(예를 들어 BCMA) 또는 이의 단편이다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단편은 항원에 결합하는 항체로부터 하나 이상의 CDR을 포함한다. 일부

구현예에서, 항원-결합 단편은 항원에 결합하는 항체의 중쇄 또는 항원에 결합하는 항체의 경쇄로부터 3개의 모든 CDR을 포함한다. 그럼에도 일부 구현예에서, 항원-결합 단편은 항원에 결합하는 항체로부터 6개의 모든 CDR (중쇄로부터 3개 및 경쇄로부터 3개)을 포함한다. 몇몇 구현예에서, 항원-결합 단편은 항원에 결합하는 항체로부터 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR을 포함하고, 몇몇 구현예에서 CDR들은 중쇄 및/또는 경쇄 CDR들의 임의의 조합물일 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단편은 항체 단편이다.

[0080] 결합 모이어티의 비-제한적인 예는 항체, 항체 단편(예를 들어 항체의 항원-결합 단편), 항체 유도체 및 항체 유사물을 포함한다. 더욱 특이적인 예는 단일 사슬 가변 단편(scFv), 나노바디(예를 들어 낙타과 중쇄 항체의 VH 도메인; VHH 단편), Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, Fv 단편, Fd 단편 및 상보성 결정 영역(CDR) 단편을 포함하나 이에 국한되지 않는다. 상기 분자들은 임의의 포유 동물 출처, 예를 들어 인간, 마우스, 래트, 토끼 또는 돼지, 개 또는 낙타에서 유래될 수 있다. 항체 단편은 손상되지 않은(예를 들어 고유의) 항체와 표적 항원의 결합을 두고 경쟁할 수 있고, 단편은 손상되지 않은 항체의 변형(예를 들어 효소적 또는 화학적 절단)에 의해 생성될 수 있거나 또는 재조합 DNA 기술 또는 펩티드 합성을 이용하여 새로이 합성될 수 있다. 결합 모이어티는, 예를 들어 대안적인 단백질 스캐폴드 또는 이식된 CDR 또는 CDR 유도체를 갖는 인공적인 스캐폴드를 포함할 수 있다. 상기 스캐폴드는, 예를 들어 생체 적합성 중합체를 포함하는 완전히 합성 스캐폴드뿐만 아니라 예를 들어 결합 모이어티의 3차원 구조를 안정화하기 위해 도입된 돌연변이를 포함하는 항체 유도 스캐폴드를 포함하나 이에 국한되지 않는다. 또한, 스캐폴드로서 피브로넥틴 구성 요소를 이용하는 항체 모방체에 근거한 스캐폴드뿐만 아니라 펩티드 항체 모방체("PAM(peptide antibody mimetic)")가 사용될 수 있다.

[0081] 일부 구현예에서, 결합 모이어티는 단일 폴리펩티드 사슬 또는 복수의 폴리펩티드 사슬에 통합된 하나 이상의 항체 단편을 포함한다. 예를 들어 결합 모이어티는, 디아바디(diabody); 인트라바디; 도메인 항체(단일 VL 또는 VH 도메인 또는 펩티드 링커에 의해 연결된 2개 이상의 VH 도메인); 맥시바디(Fc 영역에 융합된 2개의 scFv); 트리아바디; 테트라바디; 미니바디(CH3 도메인에 융합된 scFv); 펩티바디(Fc 영역에 부착된 하나 이상의 펩티드); 선형 항체(상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께 한 쌍의 항원-결합 영역을 형성하는 한 쌍의 텐덤 Fd 세그먼트(VH-CH1-VH-CH1)); 작은 모듈식 면역약제; 및 면역 글로불린 융합 단백질(예를 들어 IgG-scFv, IgG-Fab, 2scFv-IgG, 4scFv-IgG, VH-IgG, IgG-VH 및 Fab-scFv-Fc);을 포함할 수 있으나 이에 국한되지 않는다.

[0082] 일부 구현예에서, 결합 모이어티는 면역 글로불린의 구조를 갖는다. 여기에 사용된 바와 같은 용어 "면역 글로불린(immunoglobulin)"에는 통상적인 의미가 부여될 것이며, 각각의 4량체가 동일한 2쌍의 폴리펩티드 사슬을 포함하고 각각의 쌍은 하나의 "경쇄"(약 25 kDa) 및 하나의 "중쇄"(약 50-70 kDa)를 갖는 4량체 분자를 또한 지칭할 것이다. 각 사슬의 아미노 말단 부분은 항원 인식을 주로 담당하는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 각 사슬의 카르복시 말단 부분은 이펙터 기능을 주로 담당하는 불변 영역을 규정한다.

[0083] 경쇄 및 중쇄 내에서 가변(V) 및 불변 영역(C)은 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 연결되며, 중쇄는 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 또한 포함한다. 각각의 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역이 항체 결합 부위를 형성하여 손상되지 않은 면역 글로불린은 2개의 결합 부위를 갖는다.

[0084] 면역 글로불린 사슬은, 상보성 결정 영역 또는 CDR로도 명명되는 3개의 추가변 영역에 의해 연결된 상대적으로 보존된 프레임워크 영역(FR)의 일반적인 동일한 구조를 나타낸다. N-말단에서 C-말단으로 경쇄 및 중쇄 둘 다는 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4 도메인을 포함한다.

[0085] 인간 경쇄는 카파 및 람다 경쇄로 분류된다. 항체 "경쇄(light chain)"는 이의 자연 발생 구조의 항체 분자에 존재하는 보다 작은 2가지 유형의 폴리펩티드 사슬을 지칭한다. 카파(K) 및 람다(λ) 경쇄는 2개의 주요 항체 경쇄 이소타입을 지칭한다. 경쇄는, 아미노 말단에서 카르복시 말단으로 단일 면역 글로불린 경쇄 가변 영역(VL) 및 단일 면역 글로불린 경쇄 불변 도메인(CL)을 포함하는 폴리펩티드를 포함할 수 있다.

[0086] 중쇄는 뮤(μ), 델타(Δ), 감마(γ), 알파(α) 및 엡실론(ϵ)으로 분류되며, 각각 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE로 항체의 이소타입을 정의한다. 항체 "중쇄(heavy chain)"는 이의 자연 발생 구조의 항체 분자에 존재하는 보다 큰 2가지 유형의 폴리펩티드 사슬을 지칭하고, 이는 보통 항체가 속하는 클래스를 결정한다. 중쇄는, 아미노 말단에서 카르복시 말단으로 단일 면역 글로불린 중쇄 가변 영역(VH), 면역 글로불린 중쇄 불변 도메인 1(CH1), 면역 글로불린 힌지 영역, 면역 글로불린 중쇄 불변 도메인 2(CH2), 면역 글로불린 중쇄 불변 도메인 3(CH3) 및 선택적으로 면역 글로불린 중쇄 불변 도메인 4(CH4)를 포함하는 폴리펩티드를 포함할 수 있다.

[0087] IgG-클래스는 하위 클래스, 즉 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 더 나뉘어진다. IgA-클래스는 하위 클래스, 즉 IgA1 및 IgA2로 더 나뉘어진다. IgM은 IgM1 및 IgM2를 포함하나 이에 국한되지 않는 하위 클래스를 갖는다.

IgG, IgA 및 IgD 항체의 중쇄는 3개의 도메인(CH1, CH2 및 CH3)을 갖는 반면, IgM 및 IgE 항체의 중쇄는 4개의 도메인(CH1, CH2, CH3 및 CH4)을 갖는다. 면역 글로불린 중쇄 불변 도메인은 하위 유형을 포함하여 임의의 면역 글로불린 이소타입 유래일 수 있다. 항체 사슬은 CL 도메인과 CH1 도메인 사이(예를 들어 경쇄와 중쇄 사이) 및 항체 중쇄의 힌지 영역 사이에 폴리펩티드 간 이황화 결합을 통해 서로 연결된다.

[0088] 일부 구현예에서, 결합 모이어티는 항체이다. 여기에 사용된 바와 같은 용어 "항체(antibody)"는 항원에 특이적으로 결합하는 면역 글로불린 분자에서 유래된 단백질 또는 폴리펩티드 서열을 지칭한다. 항체는 단클론 또는 다클론, 복수 또는 단일 사슬 또는 손상되지 않은 면역 글로불린일 수 있고, 천연 공급원 또는 재조합 공급원에서 유래될 수 있다. 항체는 4량체의 면역 글로불린 분자일 수 있다. 항체는 "인간화된(humanized)", "키메라(chimeric)" 또는 비인간일 수 있다. 항체는 임의의 이소타입의 손상되지 않은 면역 글로불린을 포함할 수 있고, 예를 들어 키메라, 인간화된 및 이중 특이적 항체를 포함한다. 손상되지 않은 항체는 적어도 2개의 전장 중쇄 및 2개의 전장 경쇄를 일반적으로 포함할 것이다. 항체 서열은 단일 종에서만 유래될 수 있거나 또는 "키메라(chimeric)", 즉 항체의 상이한 부분이 하기 더 기재된 바와 같이 2개의 상이한 종에서 유래될 수 있다. 달리 지시되지 않는 한, 용어 "항체(antibody)"는, 항체가 2개의 전장 경쇄 및 중쇄에 포함된 항체와 동일하거나 유사한 결합 및/또는 기능을 보유한다면 실질적으로 2개의 전장 중쇄 및 실질적으로 2개의 전장 경쇄를 포함하는 항체를 또한 포함한다. 예를 들어 중쇄 및/또는 경쇄의 N-말단 및/또는 C-말단에서 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 잔기 치환, 삽입 또는 결실을 갖는 항체는, 항체가 2개의 전장 중쇄 및 2개의 전장 경쇄를 포함하는 항체와 동일하거나 유사한 결합 및/또는 기능을 보유한다면 정의에 포함된다. 항체의 예는 단클론 항체, 다클론 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체, 인간 항체, 이중 특이적 항체 및 합성 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 단클론 및 다클론 항체가 제공된다. 여기에 사용된 바와 같은 용어 "다클론 항체(polyclonal antibody)"에는 통상적인 의미가 부여될 것이며, 전형적으로 조성 및 결합 특이성에서 매우 다양한 항체 집단을 또한 지칭할 것이다. 여기에 사용된 바와 같은 용어 "단클론 항체(monoclonal antibody, mAb)"에는 통상적인 의미가 부여될 것이며, 동일한 서열을 갖는 하나 이상의 항체 집단을 또한 지칭할 것이다. 단클론 항체는 항원 상의 특정 에피토프에서 항원에 결합한다.

[0089] 일부 구현예에서, 결합 모이어티는 항체의 단편이거나 항원-결합 단편이다. 용어 "항체 단편(antibody fragment)"은 항원의 에피토프와 (예를 들어 결합, 입체 장애, 안정화/불안정화, 공간 분포에 의해) 특이적으로 상호 작용하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 부분을 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv 단편, scFv 항체 단편, 이황화물 연결 Fv(sdFv), VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편, 선형 항체, 단일 도메인 항체, 예를 들어 sdAb(VL 또는 VH 중의 어느 하나), 낙타과 VH8 도메인, 힌지 영역에서 이황화물 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편과 같은 항체 단편으로 형성된 다중 특이적 항체 및 항체의 단리된 CDR 또는 기타 에피토프 결합 단편을 포함하나 이에 국한되지 않는다. 항원-결합 단편은 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv에 또한 통합될 수 있다(예를 들어 문헌[Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23: 1126-1136, 2005] 참조). 항원-결합 단편은 피브로넥틴 유형 III과 같은 폴리펩티드에 근거한 스캐폴드로 또한 이식될 수 있다(피브로넥틴 폴리펩티드 미니바디를 기술하는 문헌[미국 특허 번호 제6,703,199호] 참조). 항체 단편은 암 항원에 대한 특이적인 항원-결합을 부여하기에 충분한 면역 글로불린의 하나 이상의 CDR을 함유하는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및/또는 Fv 단편을 포함할 수 있다. 항체 단편은 재조합 DNA 기술에 의해 또는 손상되지 않은 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다.

[0090] 일부 구현예에서, Fab 단편이 제공된다. Fab 단편은 VL, VH, CL 및 CH1 도메인을 갖는 1가 단편이고; F(ab')₂ 단편은 힌지 영역에서 이황화물 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 갖는 2가 단편이고; Fd 단편은 VH 및 CH1 도메인을 갖고; Fv 단편은 항체의 단일 암의 VL 및 VH 도메인을 갖고; dAb 단편은 VH 도메인, VL 도메인 또는 VH 또는 VL 도메인의 항원-결합 단편을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 항체 단편은 단일 도메인 항체, 단일 사슬 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv에 통합될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 여기 기재된 바와 같이 하나 이상의 CDR을 포함한다.

[0091] 몇몇 구현예에서, 단일 사슬 가변 단편이 여기에 또한 제공된다. 여기에 사용된 바와 같은 용어 "단일 사슬 가변 단편(single-chain variable fragment, scFv)"에는 통상적인 의미가 부여될 것이며, VL 및 VH 영역이 링커(예를 들어 아미노산 잔기의 합성 서열)를 통해 연결되어 연속적인 단백질 사슬을 형성하는 융합 단백질을 또한 지칭할 것이며, 여기에서 상기 링커는 단백질 사슬이 그 자체로 다시 접힐 수 있고 1가 항원-결합 부위의 형성을 허용하기에 충분한 길이이다. 명확성을 위해, 달리 상기와 같이 나타내지 않는 한, "단일 사슬 가변 단편"은 여기에 정의된 바와 같은 항체가 아니다. 디아바디는 2개의 폴리펩티드 사슬을 포함하는 2가 항체이고, 여기에

서 각각의 폴리펩티드 사슬은, 동일한 사슬 상의 2개의 도메인 사이의 페어링을 감소 또는 허용하지 않고 따라서 각각의 도메인이 또 다른 폴리펩티드 사슬 상의 상보적 도메인과 페어링을 허용하도록 구성된 링커에 의해 연결된 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 구현예에 따라, 디아바디의 2개의 폴리펩티드 사슬이 동일한 경우, 이어서 이의 페어링으로 초래되는 디아바디는 2개의 동일한 항원-결합 부위를 갖게 될 것이다. 상이한 서열을 갖는 폴리펩티드 사슬이 사용되어 2개의 상이한 항원-결합 부위를 갖는 디아바디를 만들 수 있다. 유사하게, 트라이아바디 및 테트라바디는, 각각 3개 및 4개의 폴리펩티드 사슬을 포함하고, 동일하거나 상이할 수 있는 각각 3개 및 4개의 항원-결합 부위를 형성하는 항체이다.

[0092] 몇몇 구현예에서, 결합 모이어티는 하나 이상의 CDR을 포함한다. 여기에 사용된 바와 같은 용어 "CDR"에는 통상적인 의미가 부여될 것이며, 항체 가변 서열 내에 상보성 결정 영역("최소 인지 단위(minimal recognition units)" 또는 "초가변 영역(hypervariable region)"으로도 명명)을 또한 지칭할 것이다. CDR은 결합 모이어티가 관심 특정 항원에 특이적으로 결합하는 것을 가능하게 한다. 3 개의 중쇄 가변 영역 CDR(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 3 개의 경쇄 가변 영역 CDR(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)이 존재한다. 2개의 사슬 각각에 있는 CDR은 전형적으로 프레임워크 영역에 의해 정렬되어 표적 단백질 상의 특정 에피토프 또는 도메인에 특이적으로 결합하는 구조를 형성한다. N-말단에서 C-말단으로 자연 발생 경쇄 및 중쇄 가변 영역 둘 다는 전형적으로 상기 요소의 하기 순서: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 따른다. 상기 도메인 각각의 위치를 차지하는 아미노산에 숫자를 배정하는 넘버링 시스템이 고안되었다. 상기 넘버링 시스템은 면역학적 관심 단백질의 카바트 서열에 정의된다(1987 and 1991, NIH, Bethesda, MD), 또는 Chothia & Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al., 1989, Nature 342:878-883). 주어진 항체의 상보성 결정 영역(CDR) 및 프레임워크 영역(FR)이 상기 시스템을 사용하여 식별될 수 있다. 면역 글로불린 사슬의 아미노산에 대한 기타 넘버링 시스템은 IMGT® (the international ImMunoGeneTics information system; Lefranc et al, Dev. Comp. Immunol. 29:185-203; 2005) 및 AHO(Honegger and Pluckthun, J. Mol. Biol. 309(3):657-670; 2001)를 포함한다. 하나 이상의 CDR이 공유적으로든 또는 비공유적으로든 분자에 통합되어 이를 결합 모이어티로 만들 수 있다.

[0093] 항-BCMA 결합 모이어티

[0094] 본원에 개시된 항-BCMA 결합 모이어티는 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 1, 2 및 3(HCDR1, HCDR2, HCDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 경쇄 CDR 1, 2 및 3(LCDR1, LCDR2, LCDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항-BCMA 결합 모이어티이다.

[0095] 일부 구현예에서, 상기 HCDR1은 서열번호 104-129 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 HCDR2는 서열번호 130-155 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 HCDR3은 서열번호 156 내지 181 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 HCDR1은 서열번호 104-129 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 130-155 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 156-181 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VH는 도 2에 도시된 바와 같이 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3의 조합을 포함한다.

[0096] 일부 구현예에서, 상기 LCDR1은 서열 385-410 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 LCDR2는 서열번호 411-436 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 LCDR3은 서열번호 437-462 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 LCDR1은 서열번호 385-410 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 411-436 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 437-462 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VL은 도 3에 도시된 바와 같이 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3의 조합을 포함한다.

94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 165에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;

- [illegible]

해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나;

- [illegible]

- [illegible]

- [0173] 25) 상기 HCDR1은 서열번호 128에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 154에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 180에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 상기 LCDR1은 서열번호 409에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 435에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 461에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 또는
- [0174] 26) 상기 HCDR1은 서열번호 129에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열번호 155에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열번호 181에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고; 상기 LCDR1은 서열번호 410에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열번호 436에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열번호 462에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0175] 일부 구현예에서, 상기 VH는 서열번호 260-285 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VL은 서열번호 541-566 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 도 4에 도시된 VH 및 VL의 조합을 포함한다.
- [0176] 일부 구현예에서, 상기 HCDR1은 서열번호 182-207 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 HCDR2는 서열번호 208-233 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 HCDR3은 서열번호 234-259 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.
- [0177] 일부 구현예에서, 상기 LCDR1은 서열번호 463-488 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 LCDR2는 서열번호 489-514 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 LCDR3은 서열번호 515-540 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.
- [0178] 일부 구현예에서, 상기 VH는 서열번호 286-311 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VH는 서열번호 286-311 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.
- [0179] 일부 구현예에서, 상기 VL은 서열번호 567-592 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VL은 서열번호 567-592 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.
- [0180] 일부 구현예에서, 상기 VH는 중쇄 신호 펩티드(heavy chain signal peptide; H-SP)를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 중쇄 신호 펩티드는 서열번호 1-9 중의 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 중쇄 신호 펩티드는 서열번호 10-19 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 VH는 프레임워크 영역(framework regions)을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VH는 프레임워크 영역 1, 2, 3, 및 4(H-FR1, H-FR2, H-FR3, 및 H-FR4)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 H-FR1은 서열번호 20-32 중의

어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 H-FR2는 서열번호 33-38 중의 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 H-FR3은 서열번호 39-53 중의 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 H-FR4는 서열번호 54의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 H-FR1은 서열번호 55-73 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 H-FR2는 서열번호 74-84 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 H-FR3은 서열번호 85-102 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 H-FR4는 서열번호 103의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다.

[0181] 일부 구현예에서, 상기 VL은 경쇄 신호 펩티드(light chain signal peptide; L-SP)를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 경쇄 신호 펩티드는 서열번호 312-317 중의 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 경쇄 신호 펩티드는 서열번호 318-324 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 VL은 프레임워크 영역을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VL은 프레임워크 영역 1, 2, 3, 및 4(L-FR1, L-FR2, L-FR3, 및 L-FR4)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 L-FR1은 서열번호 325-331 중의 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 L-FR2는 서열번호 332-337 중의 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 L-FR3은 서열번호 338-347 중의 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 L-FR4는 서열번호 348-353 중의 어느 하나의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 L-FR1은 서열번호 354-357 또는 1416-1420 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 L-FR2는 서열번호 358-366 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 L-FR3은 서열번호 367-377 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 L-FR4는 서열번호 378-384 중의 어느 하나의 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다.

[0182] 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 구현예는 본원에 개시된 VH 및 VL의 다양한 배열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VH 및 VL은 링커에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, 상기 링커는 서열번호 1388의 서열을 포함한다.

[0183] 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 일부 구현예에서, 상기 VH는 상기 VL의 N-말단이다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 593-618 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 619-670 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0184] 상기 항-BCMA 결합 모이어티의 일부 구현예에서, 상기 VL은 VH의 N-말단이다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 671-696 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 697-748 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0185] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1421-1426 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1447-1472 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0186] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1473-1498 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1499-1524 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0187] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1582-1600 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1601-1619 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0188] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1677-1695 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부

구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1696-1714 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0189] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1715-1733 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1734-1771 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0190] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1772-1790 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1791-1828 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0191] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1829-1847 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1848 내지 1866 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0192] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1867-1885 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 1886 내지 1923 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0193] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 3255-3277 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 3278-3323 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0194] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 3324-3346 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 3347-3392 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0195] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 5457-5479 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 5480-5502 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0196] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 3859-3862 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 3875 내지 3878 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0197] 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 서열번호 5457-5479 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는 VHH 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 VHH 도메인은 서열번호 5480-5502 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

다.

[0198] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 결합 모이어티는 보다 큰 폴리펩티드 사슬의 일부로서 하나 이상의 CDR(들)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단백질은 하나 이상의 CDR(들)을 또 다른 폴리펩티드 사슬에 공유 결합으로 연결한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단백질은 하나 이상의 CDR(들)을 비공유 결합으로 통합한다. 일부 구현예에서, 항원-결합 단백질은 생체 적합성 프레임워크 구조로 통합된 본원에 기재된 하나 이상의 CDR(들)을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 생체 적합성 프레임워크 구조는, 국소화된 표면 영역에서 항원에 결합하는 하나 이상의 아미노산 서열(예를 들어 CDR, 가변 영역 등)을 제시할 수 있는 형태적으로 안정한 구조적 지지체 또는 프레임워크 또는 스캐폴드를 형성하기에 충분한 폴리펩티드 또는 이의 부분을 포함한다. 상기 구조는 자연 발생 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 "폴드(구조적 모티프)"일 수 있거나 또는 자연 발생 폴리펩티드 또는 폴도와 비교하여 아미노산의 추가, 결실 및/또는 치환과 같은 하나 이상의 변형을 가질 수 있다. 구현예에 따라, 스캐폴드는, 인간, 비인간 영장류 또는 기타 포유 동물, 기타 척추 동물, 무척추 동물, 식물, 세균 또는 바이러스와 같은 상이한 다양한 종(또는 하나 이상의 종)의 폴리펩티드 유래일 수 있다.

[0199] 상기 구현예에 따라, 생체 적합성 프레임워크 구조는 면역 글로불린 도메인이 아닌 단백질 스캐폴드 또는 골격에 근거한다. 상기 일부 구현예에서, 상기 프레임워크 구조는 피브로넥틴, 안키린, 리포칼린, 네오카르지노스테인(neocarzinostatin), 시토크롬 b, CP1 아연 핑거, PST1, 코일드 코일(coiled coil), LACI-D1, Z 도메인 및/또는 텐다미스타트(tendamistat) 도메인에 근거한다.

[0200] 일부 구현예에서, 하나 이상의 결합 부위를 갖는 결합 모이어티가 또한 제공된다. 몇몇 구현예에서, 결합 부위는 서로 동일한 반면, 일부 구현예에서 결합 부위는 서로 상이하다. 예를 들어 항체는 전형적으로 2개의 동일한 결합 부위를 갖는 반면, "이중 특이적(bispecific)" 또는 "이중 기능성(bifunctional)" 항체는 2개의 상이한 결합 부위를 갖는다. 이중 특이적 항원-결합 단백질 또는 항체의 2개의 결합 부위는 동일하거나 또는 상이한 단백질 표적 상에 존재할 수 있는 2개의 상이한 에피토프에 결합할 것이다. 몇몇 구현예에서, 이중 특이적 키메라 항원 수용체는 조작된 세포에 복수의 종양 마커를 표적화하는 능력을 부여할 수 있기 때문에 이는 특히 유리하며, 예를 들어 BCMA 및 추가 종양 마커, 예를 들어 CD19, CD38, CS1, FCRL5, GPR5CD, CD229, NKG2D 또는 본원에 개시된 임의의 기타 마커가 종양 특이적 항원 또는 종양 관련 항원으로 당업계에서 인식된다.

[0201] 추가의 항-BCMA 결합 모이어티는 당해 기술분야에 공지되어 있으며, 예를 들어 미국특허 9,765,342, 10,294,304, 10,174,095, 유럽특허 EP 3230321, 미국특허공개공보 2018/0118842, 미국특허공개공보 2019/0153061, 및 PCT 국제공개공보 WO 2019/149269에 개시되어 있으며, 이들 문헌 각각의 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0202] 본원에서 사용되는 용어 "키메라 항체(chimeric antibody)"에는 통상적인 의미가 부여될 것이며, 하나의 항체 유래 하나 이상의 영역 및 하나 이상의 다른 항체 유래 하나 이상의 영역을 함유하는 항체를 또한 지칭할 것이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 CDR이 항암 항원(예를 들어 BCMA) 항체에서 유래된다. 몇몇 구현예에서, 모든 CDR이 항암 항원 항체(예를 들어 항-BCMA)에서 유래된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 항암 항원 항체 유래 CDR이 키메라 항체에서 혼합되고 매치된다. 예를 들어 키메라 항체는 제1 항암 항원 항체의 경쇄 유래 CDR1, 제2 항암 항원 항체의 경쇄 유래 CDR2 및 CDR3 및 제3 항암 항원 항체의 중쇄 유래 CDR을 포함할 수 있다. 또한, 본원에 개시된 항원-결합 단백질의 프레임워크 영역은, 동일한 항암 항원(예를 들어 BCMA) 항체 중 하나로부터, 인간 항체와 같은 하나 이상의 상이한 항체로부터 또는 인간화된 항체로부터 유래될 수 있다. 키메라 항체의 일 예에서, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종 유래 또는 특정 항체 클래스 또는 하위 클래스에 속하는 항체와 동일하거나 상동성이거나 이로부터 유래되는 반면, 사슬(들)의 나머지는 또 다른 종 유래 또는 또 다른 항체 클래스 또는 하위 클래스에 속하는 항체 또는 항체들과 동일하거나 상동성이거나 이로부터 유래된다. 바람직한 생물학적 활성을 나타내는 상기 항체의 단편이 또한 본원에 제공된다.

[0203] 세포 독성 신호전달 복합체

[0204] 본원에 기재된 조성물 및 방법의 일부 구현예는, 세포 독성 신호전달 복합체를 포함하는 키메라 항원 수용체, 예를 들어 BCMA-지시된 CAR과 관련된다. 본원에 개시된 바와 같이 몇몇 구현예에 따라, 제공된 세포 독성 수용체 복합체는, 세포 외 도메인(들)이 표적 세포의 표면 상의 리간드에 결합 시 세포 독성 신호전달 캐스케이드를 개시하는 하나 이상의 막관통 및/또는 세포 내 도메인을 포함한다. 본원에 개시된 특정 구현예는 키메라 항원 수용체 구조체와 관련되고, 여기에서 종양 표적화 도메인(예를 들어 항-BCMA 결합 모이어티)이 세포 독성 신호전달 복합체에 결합된다.

- [0205] 몇몇 구현예에서, 상기 세포 독성 신호전달 복합체는 하나 이상의 막관통 도메인, 하나 이상의 공-자극 도메인 및/또는 하나 이상의 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 구성 요소 부분이 주어진 도메인을 구성한다 - 예를 들어 공-자극 도메인이 2개의 서브도메인을 포함할 수 있다. 또한, 일부 구현예에서, 도메인이 다중 기능을 제공할 수 있다, 예를 들어 막관통 도메인이 또한 작용하여 신호전달 기능을 제공할 수 있다.
- [0206] хин지 도메인
- [0207] 본원에 개시된 CAR의 일부 구현예, 예를 들어 BCMA-지시된 CAR은 힙지 도메인을 포함한다. 상기 힙지 도메인은 전형적으로 막관통 도메인에 의해 세포외 결합 모이머티에 가교된 세포내 성분을 포함하는, 상기 CAR 성분의 나머지 부분으로부터 세포외 결합 모이머티를 분리하는 기능을 한다. 본원에 개시된 임의의 힙지 도메인 또는 일반적으로 당업계에 공지된 다른 것이 본원에 개시된 BCMA-지시된 CAR에 사용될 수 있다.
- [0208] 일부 구현예에서, 상기 힙지 도메인은 CD8 힙지 도메인이다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 힙지 도메인은 서열번호 1389에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 힙지 도메인은 서열번호 1400에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 힙지 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1389의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.
- [0209] 일부 구현예에서, 상기 힙지 도메인은 IgG4 힙지 도메인이다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힙지 도메인은 서열번호 1390에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힙지 도메인은 서열번호 1401에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힙지 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1390의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.
- [0210] 일부 구현예에서, 상기 힙지 도메인은 RQRCD8 힙지 도메인이다. 당해 분야에서 이해되는 바와 같이, 상기 "RQRCD8 힙지 도메인"은 추가적인 CD20 및 CD34 에피토프를 갖는 CD8 힙지 도메인이다. 이들 추가적인 에피토프의 존재는 이러한 에피토프를 이용한 대안적인 검출 방법을 허용할 뿐만 아니라, 이러한 에피토프를 갖는 CAR로 조작된 면역 세포의 선택된 고갈을 가능하게 한다(예를 들어 CD20 또는 CD34에 특이적인 항체를 사용함). 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힙지 도메인은 서열번호 1391에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힙지 도메인은 서열번호 1402에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힙지 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1391의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다. 상기 RQRCD8 힙지 도메인("RQR8"이라고도 함)은 문헌 [Philip 등 "A highly compact epitope-based marker/suicide gene for easier and safer T-cell therapy" *Blood* 124(8):1277-1287] 및 PCT 국제공개공보 WO 2013/153391에서 찾을 수 있으며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 명백히 포함된다.
- [0211] 막관통 도메인
- [0212] 본원에 개시된 CAR, 예를 들어 BCMA-지시된 CAR의 일부 구현예는 막관통 도메인을 포함한다. 통상적으로 이해되는 바와 같이, 상기 막관통 도메인은 상기 CAR의 세포외 도메인과 세포내 도메인을 연결하기 위해 세포의 원형 질막에 걸친 영역으로 작용한다. 본원에 개시된 임의의 막관통 도메인 또는 당해 분야에 일반적으로 공지된 임의의 막관통 도메인이 본원에 개시된 BCMA-지시된 CAR에 사용될 수 있다.
- [0213] 일부 구현예에서, 상기 막관통 도메인은 CD8 막관통 도메인(CD8TM)이다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 서열번호 1392에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 서열번호 1403에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1392의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.
- [0214] 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 CD8 세포내 도메인(CD8IC)을 포함할 수도 있다. 일부 구현예에서,

상기 CD8 세포내 도메인은 서열번호 1393의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 세포내 도메인은 서열번호 1404의 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 본 개시의 목적을 위해, 상기 CD8 막관통 도메인은 CD8 세포내 도메인을 포함하는 것으로 간주될 수 있으며, 따라서 상기 CD8 막관통 도메인은 N-말단에서 C-말단 배향(orientation)으로 서열번호 1392 및 서열번호 1393의 서열을 포함한다.

[0215] 일부 구현예에서, 상기 막관통 도메인은 CD28 막관통 도메인(CD28TM)이다. 일부 구현예에서, 상기 CD28 막관통 도메인은 서열번호 1414에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 서열번호 1415에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1414의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.

[0216] 신호전달 도메인

[0217] 본원에 개시된 CAR, 예를 들어 BCMA-지시된 CAR의 일부 구현예는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 당업계에 서 일반적으로 이해되는 바와 같이, 예상치 못하게 향상된 신호전달은 그 활성이 상승적으로 작용하는 다중 신호전달 도메인의 사용을 통해 달성될 수 있다. 본원에 개시된 임의의 세포내 신호전달 도메인 또는 당업계에 일반적으로 공지된 다른 도메인이 본원에 개시된 BCMA-지시된 CAR에 사용될 수 있다.

[0218] 일부 구현예에서, 상기 세포내 신호전달 도메인은 OX40 서브도메인 및 CD3 ζ 서브도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 서열번호 1394에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 서열번호 1405에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1394의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 서열번호 1395에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 서열번호 1406에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 절단되거나 변형되며, 서열번호 1395의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 CD3 ζ 서브도메인의 N-말단이다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 OX40 서브도메인의 N-말단이다.

[0219] 공-자극 도메인

[0220] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 상기 CAR은 추가의 공-활성화 분자가, 제한되지는 않지만 세포독성 활성, CAR 안정성 및 세포 수명을 포함하는, CAR 활성의 측면을 개선시키는 공-자극 도메인과 함께 발현된다. 일부 구현예에서, 추가의 공-활성화 분자는, 제한되지는 않지만 특정 인터류킨, 예를 들어 인터류킨 2(IL2) 및/또는 인터류킨 15(IL15)를 포함하는, 사이토카인일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 CAR을 발현하는 면역 세포는 또한 이러한 추가의 공-활성화 분자를 분비된 형태(secreted form)로 발현하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 상기 CAR을 발현하는 면역 세포는 또한 이러한 추가의 공-활성화 분자를 막-결합된 형태로 발현하도록 조작되며, 자가분비 자극 분자(autocrine stimulatory molecules)(또는 심지어 주변 세포에 대한 주변분비 자극제(paracrine stimulators))로서 작용한다. 막-결합된 IL15는 국제공개공보 WO 2015/174928에서 찾아지며, 이는 그 전체가 명백하게 본원에 참조로 포함된다.

[0221] 일부 구현예에서, 상기 면역 세포는, 선택적으로는 막-결합된 IL15(mbIL15)로서, IL15를 발현하도록 조작된다. 이러한 구현예에서, 면역 세포 상에서의 mbIL15 발현은 면역 세포의 증식 및/또는 수명을 증진시킴으로써 조작된 면역 세포의 세포독성 효과를 증진시킨다. 일부 구현예에서, 상기 IL15는 인간 IL15이다. 일부 구현예에서, 상기 IL15는 서열번호 1397의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 IL15는 서열번호 1408의 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15는 CD8 신호 펩티드(CD8SP), CD8 힌지(CD8h), CD8 막관통 도메인(CD8TM) 및 CD8 세포내 도메인(CD8IC) 중의 하나 이상과 IL15를 융합시킴으로써 조립된다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15는 N-말단에서 C-말단으로 CD8SP-IL15-CD8h-CD8TM-CD8IC의 순서에 따라 조립된다. 그러나, 상기 막-결합된 IL15를 제조하는 다른 방법도 예상된다.

[0222] 일부 구현예에서, 상기 mbIL15의 CD8SP는 서열번호 1396의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15의

CD8h는 서열번호 1400의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15의 CD8TM은 서열번호 1392의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15의 CD8IC는 서열번호 1393의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15의 CD8SP는 서열번호 1407의 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15의 CD8h는 서열번호 1409의 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15의 CD8TM은 서열번호 1410의 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15의 CD8IC는 서열번호 1411의 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15는 서열번호 1398의 서열에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15는 서열번호 1412의 서열에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 mbIL15는 서열번호 1398의 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%의 서열 동일성을 갖도록 절단 또는 변형될 수 있다.

[0223] 일부 구현예에서, 상기 CAR 및 mbIL15는 자가-절단 펩티드를 포함하는 폴리펩티드로서 동시에 바이시스트로닉 배치(bicistronic configuration)로 발현된다. 일부 구현예에서, 상기 CAR 및 mbIL15는 자가-절단 펩티드를 암호화하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드로부터 동시에 바이시스트로닉 배치로 발현된다. 일부 구현예에서, 상기 자가-절단 펩티드는 T2A 자가-절단 펩티드(self-cleaving peptide), P2A 자가-절단 펩티드, E2A 자가-절단 펩티드, 또는 F2A 자가-절단 펩티드이다. 이와 같이, 상기 CAR 및 mbIL15는 필요에 따라 단일 벡터로서 면역 세포에 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 T2A 자가-절단 펩티드가 사용된다. 일부 구현예에서, 상기 T2A 자가-절단 펩티드는 서열번호 1399의 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 T2A 자가-절단 펩티드는 서열번호 1413의 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0224] BCMA-지시된 키메라 항원 수용체

[0225] 본원에서는 BCMA-지시된 CAR이 개시된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 세포외 항-BCMA 결합 모이어티, 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 OX40 서브도메인 및 CD3 ζ 서브도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 본원에 개시된 항-BCMA 결합 모이어티 중의 어느 하나일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 힌지 도메인은 본원에 개시된 힌지 도메인 중의 어느 하나일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 막관통 도메인은 본원에 개시된 막관통 도메인 중의 어느 하나일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 세포내 신호전달 도메인은 본원에 개시된 세포내 신호전달 도메인 중의 어느 하나일 수 있다.

[0226] 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인(OX40)은 서열번호 1394에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 서열번호 1405에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 절단 또는 변형되고, 서열번호 1394의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 서열번호 1395에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 서열번호 1406에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1395의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다. 일부 구현예에서, 상기 OX40 서브도메인은 CD3 ζ 서브도메인의 N-말단이다. 일부 구현예에서, 상기 CD3 ζ 서브도메인은 OX40 서브도메인의 N-말단이다.

[0227] 일부 구현예에서, 상기 막관통 도메인은 CD8 막관통 도메인(CD8TM)이다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 서열번호 1392에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 서열번호 1403에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1392의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.

[0228] 일부 구현예에서, 상기 막관통 도메인은 CD28 막관통 도메인(CD28TM)이다. 일부 구현예에서, 상기 CD28 막관통 도메인은 서열번호 1414에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 서열번호 1415에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에

의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1414의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.

[0229] 일부 구현예에서, 상기 힌지 도메인은 CD8 힌지 도메인(CD8h)이다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 힌지 도메인은 서열번호 1389에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 힌지 도메인은 서열번호 1400에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 힌지 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1389의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.

[0230] 일부 구현예에서, 상기 CD8 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인은 항-BCMA 결합 모이어티 이외의 상기 BCMA-지시된 CAR의 일부를 구성한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 CD8 힌지 도메인(CD8h), CD8 막관통 도메인(CD8TM), CD8 세포내 도메인(CD8IC), OX40 서브도메인(OX40), 및 CD3 ζ 서브도메인(CD3 ζ)을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8h, CD8TM, CD8IC, OX40, 및 CD3 ζ 는 N-말단에서 C-말단으로 CD8h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ 의 순서이다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 1375에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열로 표시된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 1376에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0231] 상기 BCMA-지시된 CAR이 항-BCMA 결합 모이어티와 CD8h, CD8TM, CD8IC, OX40, 및 CD3 ζ 를 포함하는 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 749-774 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 775-800 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 인간에 대해 최적화된 핵산 코돈에 의해 암호화되고, 서열 801-826 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 905-930 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 931-956 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 인간에 대해 최적화된 핵산 코돈에 의해 암호화되고, 서열번호 957-982 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는다.

[0232] 일부 구현예에서, 상기 힌지 도메인은 IgG4 힌지 도메인이다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힌지 도메인은 서열번호 1390에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힌지 도메인은 서열번호 1401에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힌지 도메인은 절단되거나 변형되고, 서열번호 1390의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.

[0233] 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인은 항-BCMA 결합 모이어티 이외의 상기 BCMA-지시된 CAR의 일부를 구성한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 IgG4 힌지 도메인(IgG4h), CD8TM, CD8IC, OX40, 및 CD3 ζ 를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4h, CD8TM, CD8IC, OX40, 및 CD3 ζ 는 N-말단에서 C-말단으로 IgG4h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ 의 순서이다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 1377에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열로 표시된다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4 힌지 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 1378에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0234] 상기 BCMA-지시된 CAR이 항-BCMA 결합 모이어티와 IgG4, CD8TM, CD8IC, OX40, 및 CD3 ζ 를 포함하는 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 1061-1086 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 1087-1112 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%,

96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 인간에 대해 최적화된 핵산 코돈에 의해 암호화되고, 서열번호 1113-1138 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는다.

[0235] 일부 구현예에서, 상기 힌지 도메인은 RQRCD8 힌지 도메인이다. 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힌지 도메인은 서열번호 1391에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힌지 도메인은 서열번호 1402에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힌지 도메인은 절단되거나 변형되며, 서열번호 1391의 서열을 갖는 펩티드와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 상동성이다.

[0236] 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인은 항-BCMA 결합 모이어티 이외의 상기 BCMA-지시된 CAR의 일부를 구성한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 RQRCD8 힌지 도메인(RQRCD8h), CD8TM, CD8IC, OX40, 및 CD3ζ를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8h, CD8TM, CD8IC, OX40, 및 CD3ζ는 N-말단에서 C-말단으로 RQRCD8h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3ζ의 순서이다. 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힌지 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 1379에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열로 표시된다. 일부 구현예에서, 상기 RQRCD8 힌지 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 신호전달 도메인은 서열번호 1380에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다.

[0237] 상기 BCMA-지시된 CAR이 항-BCMA 결합 모이어티와 RQRCD8, CD8TM, CD8IC, OX40, 및 CD3ζ를 포함하는 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 1217-1242 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 서열번호 1243-1268 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 인간에 대해 최적화된 핵산 코돈에 의해 암호화되고, 서열번호 1269-1294 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 갖는다.

[0238] BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 구조체

[0239] 일부 구현예에서, BCMA-지시된 CAR을 포함하는 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체가 제공된다. 도 1은 본 발명에서 구현된 예시적 BCMA-지시된 CAR 구조체를 도시한 것이다. 도 1에 나타난 바와 같이, BCMA-지시된 CAR 구조체의 구현예는 항-BCMA 결합 모이어티, 힌지 도메인, CD8 막관통 도메인, CD8 세포내 도메인, OX40 서브도메인, CD3ζ 서브도메인, T2A 자가-절단 펩티드, 막-결합된 IL15를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8 막관통 도메인은 CD28 막관통 도메인으로 치환될 수 있다. 이들 성분 중의 임의의 하나 이상은 본원에 개시된 각각의 성분의 임의의 구현예일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR은 본원에 개시된 BCMA-지시된 CAR 중의 어느 하나이고, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 상기 BCMA-지시된 CAR 및 막-결합된 IL15를 바이시스트로닉 배치로 포함한다.

[0240] 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 항-BCMA 결합 모이어티, CD8h, CD8TM, CD8IC, OX40 및 CD3ζ를 포함하는 BCMA-지시된 CAR, 및 막-결합된 IL15(mbIL15)를 포함하되, 상기 BCMA-지시된 CAR 및 mbIL15는 자가-절단 펩티드(예를 들어 T2A 자가-절단 펩티드)에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 N-말단에서 C-말단으로 항-BCMA 결합 모이어티-CD8h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3ζ-T2A-mbIL15의 순서로 배열된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3ζ-T2A-mbIL15는 서열번호 1381에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3ζ-T2A-mbIL15는 서열번호 1382에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 상기 VH가 상기 VL에 대해 N-말단이 되도록 배열된 VH 및 VL을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 서열번호 827-852 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 서열번호 853-878 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된 다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 인간에 대해 최적화된 핵산 코돈에 의해 암호화되고, 서열번호 879-904 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0241]

일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 항-BCMA 결합 모이어티, CD8h, CD8TM, CD8IC, OX40 및 CD3 ζ를 포함하는 BCMA-지시된 CAR, 및 mbIL15를 포함하되, 상기 BCMA-지시된 CAR 및 mbIL15는 자가-절단 펩티드(예를 들어 T2A 자가-절단 펩티드)에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 N-말단에서 C-말단으로 항-BCMA 결합 모이어티-CD8h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15의 순서로 배열된다. 일부 구현예에서, 상기 CD8h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15는 서열번호 1381에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 CD8h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15는 서열번호 1382에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 항-BCMA 결합 모이어티는 VH 및 VL을 포함하여 VL이 VH에 대해 N-말단이 되도록 배열된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 서열번호 983-1008 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 서열번호 1009-1034 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 인간에 대해 최적화된 핵산 코돈에 의해 암호화되고, 서열번호 1035-1060 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0242]

일부 구현예에서, BCMA-지시된 CAR 구조체는 항-BCMA 결합 모이어티, IgG4h, CD8TM, CD8IC, OX40 및 CD3 ζ를 포함하는 BCMA-지시된 CAR, 및 mbIL15를 포함하되, 상기 BCMA-지시된 CAR 및 mbIL15는 자가-절단 펩티드(예를 들어 T2A 자가-절단 펩티드)에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 N-말단에서 C-말단으로 항-BCMA 결합 모이어티-IgG4h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15의 순서로 배열된다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15는 서열번호 1383에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 IgG4h-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15는 서열번호 1384에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 서열번호 1139-1164 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 서열번호 1165-1190 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 인간에 대해 최적화된 핵산 코돈에 의해 암호화되고, 서열번호 1191-1216 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0243]

일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 항-BCMA 결합 모이어티, RQR8CDh, CD8TM, CD8IC, OX40 및 CD3 ζ를 포함하는 BCMA-지시된 CAR, 및 mbIL15를 포함하되, 상기 BCMA-지시된 CAR 및 mbIL15는 자가-절단 펩티드(예를 들어 T2A 자가-절단 펩티드)에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 N-말단에서 C-말단으로 항-BCMA 결합 모이어티-RQR8CDh-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15의 순서로 배열된다. 일부 구현예에서, 상기 RQR8CDh-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15는 서열번호 1385에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 RQR8CDh-CD8TM-CD8IC-OX40-CD3 ζ-T2A-mbIL15는 서열번호 1386에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 서열번호 1295-1320 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 서열번호 1321-1346 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 CAR 구조체는 인간에 대해 최적화된 핵산 코돈에 의해 암호화되고, 서열번호 1347-1372 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

- [illegible]

적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 VHH-CAR은 서열번호 5802-5847 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 핵산에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 상기 BCMA-지시된 VHH-CAR은 mbIL15를 또한 암호화하는 핵산에 의해 암호화되며, 서열번호 5871-5916 중의 어느 하나에 대해 적어도 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 동일성을 갖는다.

[0262] 본원에서 기재된 임의의 수용체 구조체에 대해, 예를 들어 클로닝의 용이성 또는 효율성(예를 들어 제한 부위의 생성을 위해)의 결과로서 서열을 조합할 때 개시된 서열의 특정 서열 가변성, 연장 및/또는 절단이 발생할 수 있음을 이해해야 한다.

[0263] 치료 및 투여 및 투약 방법

[0264] 본원에서는 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, 또는 BCMA-지시된 CAR 구조체 중의 어느 하나를 포함하는 면역 세포의 집단이 개시된다. 일부 구현예에서, 상기 면역 세포는 NK 세포 및/또는 T 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 면역 세포의 집단은 비-BCMA 암 마커에 결합하는 추가적인 세포의 모이어티 또는 CAR을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 비-BCMA 암 마커는 CD138, SLAMF7, CD38, GPRC5D, 또는 CD19 중의 하나 이상을 포함한다.

[0265] 또한, 본원에서는 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, 또는 BCMA-지시된 CAR 구조체 중의 어느 하나를 포함하는 면역 세포 또는 면역 세포의 집단으로 암을 치료, 개선, 억제, 또는 예방하는 방법에 관한 구현예가 제공된다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 본원에 개시된 항-BCMA 결합 모이어티, BCMA-지시된 CAR, 또는 BCMA-지시된 CAR 구조체 중의 어느 하나를 포함하는 면역 세포 또는 면역 세포의 집단의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함한다.

[0266] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 유전적으로 조작된 세포(들)를 사용한 대상체의 치료는 예를 들어 (i) 질환 또는 그와 연관된 증상의 중증도의 감소 또는 호전; (ii) 질환과 연관된 증상의 지속기간의 감소; (iii) 질환 또는 그와 연관된 증상의 진행에 대한 보호; (iv) 질환 또는 그와 연관된 증상의 퇴행; (v) 질환과 연관된 증상의 발생 또는 개시에 대한 보호; (vi) 질환과 연관된 증상의 재발에 대한 보호; (vii) 대상체의 입원의 감소; (viii) 입원 기간의 감소; (ix) 질환을 갖는 대상체의 생존의 증가; (x) 질환과 연관된 증상의 수의 감소; (xi) 또 다른 요법의 예방적 또는 치료적 효과(들)의 향상, 개선, 보충, 보완 또는 증대를 비롯한 하기 효과 중 1, 2, 3, 4개 이상을 달성한다. 이들 각각의 비교는 예를 들어, 본원에 개시된 구성을 발현하지 않는 세포를 사용하는 질환에 대한 세포 기반 면역요법을 포함하는 질환에 대한 상이한 치료법과 비교된다.

[0267] 투여는 정맥내, 동맥내, 피하, 근육내, 간내, 복강내 및/또는 영향을 받은 조직으로의 국소 전달을 비-제한적으로 포함하는 다양한 경로에 의해 이루어질 수 있다. 면역 세포, 예를 들어 NK 및/또는 T 세포의 투여량은 이의 체질량, 질환 유형 및 상태, 및 치료의 목적하는 공격성을 기준으로 하여 주어진 대상체에 대해 용이하게 결정될 수 있지만, 구현예에 따라, kg 당 약 10^5 개 세포 내지 kg 당 약 10^{12} 개 세포(예를 들어, 10^5 - 10^7 , 10^7 - 10^{10} , 10^{10} - 10^{12} 및 그 안의 중복 범위)의 범위이다. 한 구현예에서, 용량 상승 요법이 사용된다. 여러 구현예에서, 면역 세포, 예를 들어 NK 및/또는 T 세포의 범위는 예를 들어 약 1×10^6 개 세포/kg 내지 약 1×10^8 개 세포/kg으로 투여된다. 구현예에 따라, 다양한 유형의 암이 치료될 수 있다. 여러 구현예에서, 간세포 암종이 치료된다. 본원에 제공된 추가의 구현예는 급성 림프모구성 백혈병(acute lymphoblastic leukemia, ALL), 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia, AML), 부신피질 암종(adrenocortical carcinoma), 카포시 육종(Kaposi sarcoma), 림프종, 위장암, 충수암, 중추 신경계암, 기저 세포 암종, 담관암, 방광암, 골암, 뇌 종양(별아교세포종, 척수 종양, 뇌간 신경교종, 교모세포종, 머리인두종(craniopharyngioma), 뇌실막모세포종(ependymoblastoma), 상의세포종(ependymoma), 수모세포종(medulloblastoma), 수질상피종(medulloepithelioma)을 포함하나 이에 제한되지는 않음), 유방암, 기관지 종양, 버킷 림프종, 자궁경부암, 결장암, 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia, CLL), 만성 골수성 백혈병(chronic myelogenous leukemia, CML), 만성 골수증식성 장애, 관 암종, 자궁내막암, 식도암, 위암, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 모발상 세포 백혈병, 신세포암, 백혈병, 구강암, 비인두암, 간암, 폐암(비-소세포 폐암, (non-small cell lung cancer, NSCLC) 및 소세포 폐암을 포함하나 이에 제한되지는 않음), 췌장암, 장암, 림프종, 흑색종, 안구암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 뇌하수체암, 자궁암, 및 질암을 포함하나 이에 제한되지는 않는 암의 하기 비-제한적 예의 치료 또는 예방을 포함한다.

- [0268] 본원에 개시된 바와 같은 조작된 NK 세포의 암의 치료를 위한 및/또는 암 치료용 의약의 제조를 위한 용도가 또한 제공된다. 여러 구현예에서, 상기 암은 다발성 골수종(multiple myeloma)이다.
- [0269] 몇몇 구현예에서, 개시된 키메라 항원 수용체(제한되지는 않지만 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 포함함)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 mRNA이다. 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 DNA이다. 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 세포독성 수용체 복합체의 발현을 위한 적어도 하나의 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다.
- [0270] 추가로, 몇몇 구현예에 따라, 본원에 제공된 임의의 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 제공되며, 상기 폴리뉴클레오티드는 세포독성 수용체 복합체의 발현을 위한 적어도 하나의 조절 요소에 임의로 작동가능하게 연결된다. 몇몇 구현예에서, 상기 벡터는 레트로바이러스이다.
- [0271] 본원에는 본원에 개시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 세포독성 수용체 복합체를 포함하는 조작된 면역 세포(예를 들어 NK 및/또는 T 세포)가 추가로 제공된다. 조작된 면역 세포(예를 들어 NK 세포 및/또는 조작된 T 세포)의 혼합물을 포함하는 조성물이 본원에 추가로 제공되며, 각각의 집단은 본원에 개시된 바와 같은 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 세포독성 수용체 복합체를 포함한다.
- [0272] 암 유형
- [0273] 본원에 기재된 조성물 및 방법의 일부 구현예는 키메라 항원 수용체, 예를 들어 BCMA-지시된 키메라 항원 수용체를 포함하는 면역 세포를 암을 갖는 대상체에게 투여하는 것에 관한 것이다. 본원에 제공된 다양한 구현예는 하기 비-제한적인 암의 치료 또는 예방을 포함한다. 암의 예는 다발성 골수종, 급성 림프모구성 백혈병 (acute lymphoblastic leukemia, ALL), 급성 골수성 백혈병 (acute myeloid leukemia, AML), 부신피질 암종 (adrenocortical carcinoma), 카포시 육종(Kaposi sarcoma), 림프종, 위장암, 충수암, 중추 신경계암, 기저 세포 암종, 담관암, 방광암, 골암, 뇌 종양 (별아교세포종, 척수 종양, 뇌간 신경교종, 교모세포종, 머리인두종 (craniopharyngioma), 뇌실막모세포종(ependyoblastoma), 상의세포종(ependymoma), 수모세포종 (medulloblastoma), 수질상피종(medulloepithelioma) 을 포함하나 이에 제한되지는 않음), 유방암, 기관지 종양, 버킷 림프종, 자궁경부암, 결장암, 만성 림프구성 백혈병 (chronic lymphocytic leukemia, CLL), 만성 골수성 백혈병 (chronic myelogenous leukemia, CML), 만성 골수증식성 장애, 관 암종, 자궁내막암, 식도암, 위 암, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 모발상 세포 백혈병, 신세포암, 백혈병, 구강암, 비인두암, 간암, 폐암 (비-소세포 폐암, (non-small cell lung cancer, NSCLC) 및 소세포 폐암을 포함하나 이에 제한되지는 않음), 췌장암, 장암, 림프종, 흑색종, 안구암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 뇌하수체암, 자궁암, 및 질암을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0274] 암 표적
- [0275] 본원에 기재된 조성물 및 방법의 일부 구현예는 암 항원을 표적화하는 하나 이상의 키메라 항원수용체를 포함하는 면역 세포에 관한 것이다. 표적 항원의 비-제한적 예는 다음을 포함한다: BCMA, CD19, CD38, CD138(신데칸 (syndecan)이라고도 함), G 단백질-커플링된 수용체, 클래스 C 군 5 멤버 D(*GPRC5D*), SLAMF7, CD229(SLAMF3), CD123, DLL3, 표피 성장 인자 수용체(EGFR), 전립선 특이적 막 항원(PSMA), Fms 유사 티로신 키나제 3(FLT3); KREMEN2(Kringle Containing Transmembrane Protein 2), 알칼리성 포스파타제, 태반-유사(placental-like) 2, ALPPL2, 클라우딘 4, 클라우딘 6, CD5, CD22; CD30; CD171; CS1(CD2 서브세트 1, CRACC, SLAMF7, CD319, 및 19A2로도 지칭됨); C-유형 렉틴-유사 분자-1(C-type lectin-like molecule-1, CLL-1 또는 CLECL1); CD33; 표피 성장 인자 수용체 변이체 III(EGFRviii); ganglioside G2(ganglioside G2, GD2); ganglioside GD3(aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bdGalp(1-4)bdGlc(1-1)Cer); Tn 항원((Tn Ag) 또는 (GalNAc-Ser/Thr)); 전립선-특이적 막 항원(prostate-specific membrane antigen, PSMA); 수용체 티로신 키나제-유사 고아 수용체 1(ROR1); Fms 유사 티로신 키나제 3(FLT3); 종양-연관 당단백질 72(TAG72); CD38; CD44v6; 급성 백혈병 또는 림프종에서 발현되지만 조혈 전구에서는 발현되지 않는 글리코실화된 CD43 에피토프, 비-조혈 암에서 발현되는 글리코실화된 CD43 에피토프, 암배아 항원(Carcinoembryonic antigen, CEA); 상피 세포 부착 분자(epithelial cell adhesion molecule, EPCAM); B7H3(CD276); KIT(CD117); 인터류킨-13 수용체 서브유닛 알파-2(IL-13Ra2 또는 CD213A2); 메소텔린(Mesothelin); 인터류킨 11 수용체 알파(IL-11Ra); 전립선 줄기 세포 항원(PSCA); 프로테아제 세린 21(테스티신(Testisin) 또는 PRSS21); 혈관 내피 성장 인자 수용체 2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2); 루이스(Y) 항원; CD24; 혈소판-유래 성장 인자 수용체 베타(PDGFR-베타); 단계-특이적 배아 항원-4(Stage-specific embryonic antigen-4, SSEA-4); CD20; 폴레이트 수용체 알파(Folate receptor alpha, FRa 또는 FR1); 폴레이트 수용체 베타(FRb); 수용체 티로신-단백질 키나제 ERBB2(Her2/neu);

뮤신 1, 세포 표면 관련(Mucin 1, cell surface associated, MUC1); 표피 성장 인자 수용체(EGFR); 신경 세포 부착 분자(NCAM); 프로스타제; 전립선 산 포스파타제(PAP); 돌연변이된 신장 인자 2(ELF2M); 에프린 B2; 섬유모 세포 활성화 단백질 알파(FAP); 인슐린-유사 성장 인자 1 수용체(IGF-I 수용체), 탄산 탈수효소 IX(CAIX); 프로테아솜(프로솜, 마크로페인) 서브유닛, 베타 유형, 9(LMP2); 당단백질 100(gp100); 브레이크포인트 클러스터 영역(breakpoint cluster region, BCR) 및 아벨슨 무린 백혈병 바이러스 종양유전자 상동체 1(Ab1)(bcr-ab1)로 구성된 종양유전자 융합 단백질; 티로시나제; 에프린 유형-A 수용체 2(EphA2); 시알릴 루이스 부착 분자(sLe); 강글리오시드 GM3(aNeu5Ac(2-3)bDC1alp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer); 트랜스글루타미나제 5(TGS5); 고분자량-흑색종 관련 항원(HMWMAA); o-아세틸-GD2 강글리오시드(OAcGD2); 종양 내피 마커 1(TEM1/CD248); 종양 내피 마커 7-관련(tumor endothelial marker 7-related, TEM7R); 클라우딘 6(CLDN6); 갑상선 자극 호르몬 수용체(TSHR); G 단백질 커플링된 수용체 클래스 C 군 5, 멤버 D(G protein coupled receptor class C group 5, member D, GPRC5D); 염색체 X 오픈 리딩 프레임 61(CXORF61); CD97; CD179a; 역형성 림프종 키나제(anaplastic lymphoma kinase, ALK); 폴리시알산; 태반-특이적 1(placenta-specific 1, PLAC1); 글로보H 글리코세라미드의 육당류 부분(hexasaccharide portion of globoH glycosphingolipid, GloboH); 유선 분화 항원(NY-BR-1); 유로폴라킨 2(UPK2); A형 간염 바이러스 세포 수용체 1(HAVCR1); 아드레노레프터 베타 3(adrenoceptor beta 3, ADRB3); 파닉신 3(PANX3); G 단백질-커플링된 수용체 20(GPR20); 림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 K 9(lymphocyte antigen 6 complex, locus K 9, LY6K); 난백인자 수용체 51E2(Olfactory receptor 51E2, OR51E2); TCR 감마 교대 리딩 프레임 단백질(TARP); 윌름스 종양 단백질(Wilms tumor protein, WT1); 암/고환 항원 1(NY-ESO-1); 암/고환 항원 2(LAGE-1a); 흑색종-연관 항원 1(MAGE-A1); 염색체 12p 상에 위치한 ETS 전위-변이체 유전자 6(ETS translocation-variant gene 6, located on chromosome 12p, ETV6-AML); 정자 단백질 17(SPA17); X 항원 패밀 리; 멤버 1A(XAGE1); 안지오포이에틴-결합 세포 표면 수용체 2(angiopoietin-binding cell surface receptor 2, Tie 2); 흑색종 암 고환 항원-1(MAD-CT-1); 흑색종 암 고환 항원-2(MAD-CT-2); Fos-관련 항원 1; 종양 단백질 p53(p53); p53 돌연변이체; 프로스테인; 서바이빈; 텔로머라제; 전립선 암종 종양 항원-1(PCT A-1 또는 Galectin 8), T 세포 1에 의해 인식되는 흑색종 항원(MelanA 또는 MART1); 래트 육종(Ras) 돌연변이체; 인간 텔로머라제; 역전사효소(hTERT); 육종 전좌 중단점(sarcoma translocation breakpoints); 흑색종 세포자멸사 억제제(ML-IAP); ERG(막관통 프로테아제(transmembrane protease), 세린 2(TMPS2) ETS 융합 유전자); N-아세틸 글루코사미닐-트랜스퍼라제 V(NA17); 쌍형성 박스 단백질 Pax-3(paired box protein Pax-3, PAX3); 안드로 겐 수용체; 사이클린 B1; v-myc 조류 골수세포종 바이러스 종양유전자 신경모세포종 유래 상동체(MYC); 라스 호모로그 패밀 리 멤버 C(Ras Homolog Family Member C, RhoC); 티로시나제-관련 단백질 2(TRP-2); 시토크롬 P450 1B 1(CYP1B 1); CCCTC-결합 인자(징크 핑거 단백질)-형질병(BORIS 또는 Brother of the Regulator of Imprinted Sites), T 세포 3에 의해 인식되는 편평 세포 암종 항원(SART3); 쌍형성 박스 단백질 Pax-5(PAX5); 프로아크로신 결합 단백질 sp32(OY-TES1); 림프구-특이적 단백질 티로신 키나제(LCK); A 키나제 앵커 단백질 4(AKAP-4); 활막 육종(synovial sarcoma), X 중단점 2(SSX2); 진전된 Gly 양이온 최종제품(Advanced Gly cation Endproducts)에 대한 수용체(RAGE-1); 신장 유비쿼터스 1(RU1); 신장 유비쿼터스 2(RU2); 레구마인; 인 간 유두종 바이러스 E6(HPV E6); 인간 유두종 바이러스 E7(HPV E7); 장 카르복실 에스테라제; 돌연변이된 열 충격 단백질 70-2(mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; 백혈구-연관 면역글로불린-유사 수용체 1(LAIR1); IgA 수 용체의 Fc 단편(FCAR 또는 CD89); 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 서브패밀 리 A 멤버 2(LILRA2); CD300 분자-유사 패밀 리 멤버 f(CD300LF); C-유형 렉틴 도메인 패밀 리 12 멤버 A(CLEC12A); 골수 기질 세포 항원 2(BST2); EGF-유사 모듈-함유 뮤신-유사 호르몬 수용체-유사 2(EMR2); 림프구 항원 75(LY75); 글리피칸-3(GPC3); Fc 수 용체-유사 5(FCRL5); 및 면역글로불린 람다-유사 폴리펩티드 1(IGLL1), MPL, 비오틴, c-MYC 에피토프 태그, CD34, LAMP1 TROP2, GFR알파4, CDH17, CDH6, NYBR1, CDH19, CD200R, Slea(CA19.9; 시알릴 루이스 항원(Sialyl Lewis Antigen)); Fucosyl-GM1, PTK7, gpNMB, CDH1-CD324, DLL3, CD276/B7H3, IL11R α , IL13R α 2; CD179b-IGLII, TCR감마-텔타, NKG2D, CD32(FCGR2A), Tn ag, Tim1/HVCR1, CSF2RA(GM-CSFR-알파), TGF베타R2, Lews Ag, TCR-베타 사슬, TCR-베타2 사슬, TCR-감마 사슬, TCR-텔타 사슬, FITC, 황체형성 호르몬 수용체(LHR), 여 포 자극 호르몬 수용체(FSHR), 고나도트로핀 호르몬 수용체(CGHR 또는 GR), CCR4, GD3, SLAMF6, SLAMF4, HIV1 외피 당단백질, HTLV1-Tax, CMV pp65, EBV-EBNA3c, KSHV K8.1, KSHV-gH, 인플루엔자 A 헤마글루티닌(HA), GAD, PDL1, 구아닐릴 사이클라제 C(GCC), 데스모글레인 3(Dsg3)에 대한 자가 항체, 데스모글레인(desmoglein 1, Dsg1), HLA, HLA-A, HLA-A2, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DM에 대한 자가 항체, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA-DQ, HLA-DR, HLA-G, IgE, CD99, Ras G12V, 조직 인자 1(TF1), AFP, GPRC5D, 클라우딘 8.2(CLD18A2 또는 CLDN18A2), P-당단백질, STEAP1, Liv1, 넥틴-4, Cripto, gpA33, BST1/CD157, 낮은 전도도 클로라이드 채널, TNT 항체에 의해 인식되는 항원 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다.

- [0276] 실시예
- [0277] 본원에 개시된 물질 및 방법은 본원에 개시된 특정 실시예에 따라 사용되는 비-제한적인 예이다.
- [0278] 실시예 1 - NK 세포에서 항-BCMA CAR 발현
- [0279] 몇몇 구현예에 따르면, NK 세포는 말초 혈액 단핵 세포로부터 단리되고 피더 세포주(feeder cell line)의 사용을 통해서 증폭될 것이다. 몇몇 구현예에서, 피더 세포는 면역 세포 증폭 및 활성화를 촉진하기 위해 특정 자극 분자(예를 들어 인터루킨, CD3, 4-1BBL 등)를 발현하도록 조작된다. 조작된 피더 세포는 예를 들어 미국특허 제 7,435,596호 또는 제 8,026,097호, 국제출원 제PCT/SG2018/050138호, 국제출원 제PCT/US2020/044033호, 및 미국 가특허출원 제63/073,671호에 개시되어 있으며, 이들 각각의 전체 내용은 본 명세서에 전체적으로 참고로 인용된다.
- [0280] PBMC로부터 단리된 NK 세포는 막-결합된 IL15 및 4-1BBL을 발현하는 K562 세포와 공-배양되고, 배지는 IL2로 보충될 것이다. 항-BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 구조체, 예를 들어 본원에 개시된 것들 중의 어느 하나를 암호화하는 벡터를 사용한 바이러스 형질도입은 대략 7일째에 수행될 것이다. 다양한 항-BCMA CAR 구조체는 NK 세포의 상이한 집단으로 형질도입될 것이다. 본원에서 개시된 하나 이상의 막관통 도메인, 하나 이상의 힌지 도메인, 하나 이상의 공-자극 도메인 및 하나 이상의 신호전달 도메인의 임의의 조합이 사용될 수 있다. 몇몇 구현예에서, 항-BCMA CAR은 OX40 도메인 및 CD3ζ 신호전달 도메인을 포함할 것이다. 몇몇 구현예에서, 바이러스 벡터는 또한 임의로 막-결합된 포맷으로 인터루킨 15를 암호화하여 항-BCMA CAR과 함께 NK 세포에 의해 발현될 것이다. 생성된 조작된 NK 세포는 총 배양 시간의 14일 이상에서 평가될 것이다.
- [0281] 본원에 개시된 구현예들이 또한 에피토프 태그-부재 CAR 구조체를 제공할지라도, 항-BCMA CAR 구조체의 발현은 CAR 구조체를 검출함으로써, 예를 들어 CAR에 통합된 태그 서열(예를 들어 FLAG 에피토프 태그 또는 RQRCD8 힌지의 CD34 및 CD20 에피토프)을 발현하는 시험 집단에서 NK 세포의 백분율을 평가함으로써 평가될 것이다. NK 세포의 약 75% 이상은 안정적인 방식으로 (예를 들어 배양물에서 적어도 2-3주 또는 그 이상 동안) CAR을 발현할 것으로 믿어진다.
- [0282] 이는 전조적 실시예이다.
- [0283] 실시예 2 - T 세포에서 항-BCMA CAR 발현
- [0284] 몇몇 구현예에 따르면, T 세포는 말초혈액 단핵구 세포로부터 분리되고, 상업적으로 입수 가능한 T 세포 증폭 제품(예를 들어 항-CD3 및 항-CD28 항체에 결합된 비드)을 사용하여 증폭될 것이다.
- [0285] 항-BCMA-지시된 키메라 항원 수용체 구조체, 예를 들어 본원에 개시된 것들 중의 어느 하나를 암호화하는 다양한 벡터를 갖는 T 세포의 바이러스 형질도입은 대략 7일째에 수행될 것이다. 다양한 항-BCMA CAR 구조체는 T 세포의 상이한 집단으로 형질도입될 것이다. 본원에서 개시된 하나 이상의 막관통 도메인, 하나 이상의 힌지 도메인, 하나 이상의 공-자극 도메인 및 하나 이상의 신호전달 도메인의 임의의 조합이 사용될 수 있다. 몇몇 구현예에서, 항-BCMA CAR은 OX40 도메인 및 CD3ζ 신호전달 도메인을 포함할 것이다. 몇몇 구현예에서, 바이러스 벡터는 또한 임의로 막-결합된 포맷으로 인터루킨 15를 암호화하여, 항-BCMA CAR과 함께 T 세포에 의해 발현될 것이다. 생성된 조작된 T 세포는 총 배양 시간의 14일 이상에 평가될 것이다.
- [0286] 본원에 개시된 구현예들이 또한 에피토프 태그-부재 CAR 구조체를 제공할지라도, 항-BCMA CAR 구조체의 발현은 예를 들어 CAR에 통합된 태그 서열(예를 들어 FLAG 에피토프 태그 또는 RQRCD8 힌지의 CD34 및 CD20 에피토프)을 발현하는 테스트 집단에서 T 세포의 백분율을 평가함으로써 CAR 구조체를 검출함으로써 평가될 것이다. T 세포의 약 75% 이상은 안정한 방식으로 (예를 들어 배양물에서 적어도 2-3주 또는 그 이상 동안) CAR을 발현할 것으로 여겨진다.
- [0287] 이는 전조적 실시예이다.
- [0288] 실시예 3 - 항-BCMA CAR-발현 NK 및 T 세포의 세포독성의 시험관내 평가
- [0289] 다양한 항-BCMA CAR, 예를 들어 본원에 개시된 것들을 발현하는 NK 세포 및/또는 T 세포는 BCMA를 발현하는 종양 세포뿐만 아니라 대조군으로서 BCMA를 거의 또는 전혀 발현하지 않는 세포와 공-배양될 것이다. 또한 비-형질도입된 NK 및/또는 T 세포가 음성 대조군으로 사용될 수 있다. 종양 세포는 유동 세포측정법(flow cytometry)에 의한 검출/정량화를 위해 형광 검출 태그(예를 들어 GFP)로 임의로 태그화될 것이다. 다양한 이펙터(effector):표적(target)의 비(E:T)는, 예를 들어 8:1, 4:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:4 및/또는 1:8로 평가될

것이다. 공-배양 후, 배양 배지가 수집되고 다양한 세포독성 또는 전염증성 사이토카인의 수준에 대해 검정될 것이다. 종양 세포 생존이 정량화될 것이다.

[0290] 항-BCMA CAR을 발현하는 NK 및/또는 T 세포 및 BCMA를 발현하는 종양 세포와 공-배양된 NK 및/또는 T 세포는 비-형질도입된 NK 및/또는 T 세포 및 감소된 BCMA 수준을 발현하는 종양 세포와 함께 배양된 BCMA-CAR-발현 NK 및/또는 T 세포에 의한 이들 이펙터의 방출과 비교하여 세포독성 이펙터 분자(예를 들어 그랜자임 B, 퍼포린, 및/또는 인터페론 감마)의 더 높은 방출을 초래할 것으로 여겨진다.

[0291] 항-BCMA CAR을 발현하는 NK 및/또는 T 세포 및 BCMA를 발현하는 종양 세포와 공-배양된 세포는 주어진 실험의 E:T 비에 의존적인 방식으로 종양 세포에 대해 세포독성 효과를 나타낼 것으로 여겨진다. 조작된 NK 및/또는 T 세포는 자연에서 지속되는 (예를 들어 형질도입 후 적어도 2-3주 동안 세포독성을 나타낼 수 있는) 항-종양 세포 효과를 나타낼 것으로 여겨진다.

[0292] 이는 전조적 실시예이다.

[0293] 실시예 4 - 항-BCMA CAR-발현 NK 및 T 세포의 세포독성의 생체내 평가

[0294] NK 및 T 세포는 PBMC로부터 분리되고 상기 기재된 바와 같이 증폭될 것이다. NK 세포 및 T 세포는 NK 또는 T 세포의 바이러스 형질도입을 통해 항-BCMA CAR, 예를 들어 본원에 개시된 것들을 발현하도록 조작될 것이다. 바이러스 형질도입은 분리 후 대략 7일째에 수행될 것이다. 다양한 항-BCMA CAR 구조체는 NK 세포 및 T 세포의 상이한 집단으로 형질도입될 것이다. 본원에 개시된 하나 이상의 막관통 도메인, 하나 이상의 힌지 도메인, 하나 이상의 공-자극 도메인 및 하나 이상의 신호전달 도메인의 임의의 조합이 사용될 수 있다. 몇몇 구현예에서, 항-BCMA CAR은 OX40 도메인 및 CD3ζ 신호전달 도메인을 포함할 것이다. 몇몇 구현예에서, 바이러스 벡터는 또한 임의로 막-결합 포맷으로 인터류킨 15를 암호화하여 항-BCMA CAR과 함께 NK 세포에 의해 발현될 것이다. 생성된 조작된 NK 및 조작된 T 세포는 총 배양 시간의 14일 이상에 평가될 것이다.

[0295] 면역 결핍 NSG 마우스는 0일째에 BCMA-양성 종양 세포(예를 들어 다발성 골수종 세포, 예를 들어 NCI-H929, U266-B1, 또는 RPMI-8226)를 적절한 용량(예를 들어 1×10^5 개의 세포)으로 정맥내 주사하고 발광 마커를 발현시킬 것이다. 1일째에, 마우스는 PBS 대조군 주사, 비-형질도입된 NK 및/또는 T 세포, 또는 본원에 개시된 다양한 항-BCMA CAR 중의 하나를 발현하는 NK 및/또는 T 세포를 투여받을(receive) 것이다. 생물발광 영상화 데이터는 다양한 시점, 예를 들어 0일, 8일, 11일, 16일, 20일, 28일, 32일 및 40일째에 수집될 것이다. 혈액 샘플은 다양한 시점, 예를 들어 5일, 15일 및 20일, 25일, 30일, 35일 및 40일째에 수집될 것이다.

[0296] 혈액 샘플은 BCMA 또는 또 다른 식별 세포 표면 단백질을 검출하기 위해 유동 세포측정법을 사용하여 종양 세포의 존재 및 수에 대해 분석될 것이다. 생물발광 이미지(bioluminescent image)는 시점에 걸친 신호 강도에 대해 검토될 것이다. 생물발광 신호는 PBS-대조군 및 비-형질도입된 NK 및/또는 T 세포에 대해 시간에 걸쳐 증가될 것으로 예상되며, 이는 종양 세포의 증폭을 시사한다. 항-BCMA CAR을 발현하는 NK 세포의 주사는 종양 세포 성장의 감소된 진행을 초래할 것으로 예상된다. 항-BCMA CAR을 발현하는 T 세포의 주사는 종양 세포 성장의 감소된 진행을 초래할 것으로 예상된다. 항-BCMA CAR을 발현하는 NK 세포 및 항-BCMA CAR을 발현하는 T 세포의 조합물의 주사는 종양 세포 성장의 진행에서의 현저한, 또는 심지어 상승작용적 감소를 산출할 것으로 예상된다. BCMA의 추가 에피토프가 (예를 들어 이중-특이적 CAR 또는 NK 및/또는 T 세포에 의해 발현된 제 2 CAR에 의해) 표적화되는 구현예에서, 추가의 증진된 세포독성이 예상된다.

[0297] 항-BCMA CAR(또는 CARs)을 발현하는 NK 세포 및/또는 T 세포를 투여받은 마우스는 대조군에 비해 향상된 생존율을 나타낼 것으로 예상된다.

[0298] 이는 전조적 실시예이다.

[0299] 실시예 5 - 항-BCMA CAR-발현 NK 및/또는 T 세포와 다른 암 표적의 조합

[0300] NK 및 T 세포는 PBMC로부터 분리되고 본원에서 기재된 바와 같이 증폭될 것이다. NK 세포 및 T 세포는 NK 또는 T 세포의 바이러스 형질도입을 통해 항-BCMA CAR, 예를 들어 본원에 개시된 것들을 발현하도록 조작될 것이다. 바이러스 형질도입은 분리 후 대략 7일째에 수행될 것이다. 다양한 항-BCMA CAR 구조체는 NK 세포 및 T 세포의 상이한 집단으로 형질도입될 것이다. 본원에 개시된 하나 이상의 막관통 도메인, 하나 이상의 힌지 도메인, 하나 이상의 공-자극 도메인 및 하나 이상의 신호전달 도메인의 임의의 조합이 사용될 수 있다. 몇몇 구현예에서, 항-BCMA CAR은 OX40 도메인 및 CD3ζ 신호전달 도메인을 포함할 것이다. 몇몇 구현예에서, 바이러스 벡터는 또한 임의로 막-결합 포맷으로 인터류킨 15를 암호화하여 항-BCMA CAR과 함께 NK 세포에 의해 발현될 것이다.

- [0301] NK 세포 및/또는 T 세포는 추가의, 예를 들어 비-BCMA, 종양 마커에 대해 유도된 CAR을 발현하도록 조작될 것이다. 추가의 종양 마커는 CD19, CD38, CD138, SLAM-F7, 또는 GPRC5D, 또는 당해 분야에서 일반적으로 알려진 다른 종양 마커 중의 하나 이상일 것이다. 몇몇 구현예에서, 단일 CAR은 BCMA 및 CD19, CD38, CD138, SLAM-F7, 또는 GPRC5D, 또는 당해 분야에서 일반적으로 알려진 다른 종양 마커 중의 하나 이상을 표적화하도록 조작된다. BCMA-표적화 CAR과 마찬가지로, 본원에 개시된 하나 이상의 막관통 도메인, 하나 이상의 힌지 도메인, 하나 이상의 공-자극 도메인 및 하나 이상의 신호전달 도메인의 임의의 조합이 사용될 수 있다. 몇몇 구현예에서, 비-BCMA 마커에 대해 유도된 CAR은 OX40 도메인 및 CD3 ζ 신호전달 도메인을 포함할 것이다. 몇몇 구현예에서, NK 및/또는 T 세포를 비-BCMA CAR과 형질도입시키는데 사용되는 바이러스 벡터는 또한 임의로 막-결합된 포맷으로 인터류킨 15를 암호화하여, 비-BCMA CAR(또는 이중특이적 CAR)과 함께 NK 세포에 의해 발현될 것이다. 생성된 조작된 NK 및 조작된 T 세포는 총 배양 시간의 14일 이상에 평가될 것이다.
- [0302] 면역 결핍 NSG 마우스는 하나 이상의 비-BCMA 종양 마커(예를 들어, CD19, CD38, CD138, SLAM-F7, 또는 GPRC5D)에 대해 양성이고 발광 마커를 발현하는 BCMA-양성인 종양 세포(적절한 용량, 예를 들어 1×10^5 개의 세포)와 함께 0일째에 정맥내 주사될 것이다. 1일째에, 마우스는 PBS 대조군 주사, 비-형질도입된 NK 및/또는 T 세포, 또는 본원에 개시된 다양한 항-BCMA CAR 중의 하나를 발현하는 NK 및/또는 T 세포, 본원에 개시된 다양한 비-BCMA CAR 중의 하나를 발현하는 T 세포, 또는 이중특이적 BCMA/비-BCMA CAR을 제공받을 것이다. 생물발광 이미징 데이터는 다양한 시점, 예를 들어 0일, 8일, 11일, 16일, 20일, 28일, 32일 및 40일째에 수집될 것이다. 혈액 샘플은 다양한 시점, 예를 들어 5일, 15일 및 20일, 25일, 30일, 35일 및 40일째에 수집될 것이다.
- [0303] 혈액 샘플은 BCMA 및 비-BCMA 세포 표면 단백질을 검출하기 위해 유동 세포측정법을 사용하여 종양 세포의 존재 및 수에 대해 분석될 것이다. 생물발광 이미지는 시점에 걸친 신호 강도에 대해 검토될 것이다. 생물발광 신호는 PBS-대조군 및 비-형질도입된 NK 및/또는 T 세포에 대해 시간에 걸쳐 증가될 것으로 예상되며, 이는 종양 세포의 증폭을 시사한다. NK 세포, T 세포, 및/또는 NK 세포와 항-BCMA CAR 및 비-BCMA 표적에 대한 CAR을 발현하는 T 세포의 조합물의 주사는 종양 세포 성장의 감소된 진행을 초래할 것으로 예상된다. 이러한 감소는 항-BCMA 또는 비-BCMA CAR을 발현하는 세포에 의해 달성되는 것보다 더 큰 종양 성장 감소를 산출할 것으로 예상된다. 몇몇 실시예에서, 종양 세포 성장의 유사한 감소는 NK 세포 상에서, T 세포 상에서, 또는 NK 세포 및 T 세포 둘 다 상에서 조합하여 발현되든지 간에, BCMA 및 비-BCMA 표적을 표적화하는 이중-특이적 CAR에 의해 예상될 것이다.
- [0304] 항-BCMA CAR 및 비-BCMA 표적화 CAR(또는 단일, 이중-특이적 CAR)을 발현하는 NK 세포 및/또는 T 세포를 투여받은 마우스는 대조군 뿐만 아니라 단지 하나의 CAR(BCMA 또는 비-BCMA-지시된)을 발현하는 세포로 처리된 군에 비해 향상된 생존율을 나타낼 것으로 예상된다.
- [0305] 이는 전조적 실시예이다.
- [0306] 실시예 6 - 토닉 대 표적 결합-유도된 신호전달의 스크린
- [0307] 진술한 바와 같이, 본원에서 제공된 CAR은 다양한 구조적 성분들을 사용하고/하거나 상이한 구조적 배치(configuration)의 동일한 성분을 사용한다. 면역요법에 사용하기 위한 CAR을 선택하기 위해, 본원에 개시된 다양한 CAR 성분 및 CAR 포맷이 토닉 신호전달(tonic signaling)(예를 들어 표적의 부재 하에 CAR로부터의 신호전달)과 비교하여 발현, 표적 결합 및 표적 결합-유도된 활성화에 어떻게 영향을 미치는지 평가하기 위해 일련의 실험을 수행하였다. 도면에 도시된 바와 같이(비-제한적인 구현예로서) 그리고 본원에 기술된 바와 같이, CAR은 상기 구현예에 따른 다양한 구조를 사용한다. 예를 들어 몇몇 구현예에서 상이한 힌지 도메인은 상기 CAR의 종양 결합부를 상기 CAR의 나머지 부분(예를 들어 막관통 및 신호전달 영역)에 작동가능하게 연결하는데 사용된다. 몇몇 구현예에서, CD8 알파-유래된 도메인이 사용된다. 예를 들어 몇몇 구현예에서, 상기 CD8 힌지, 막관통 및 세포내 도메인이 CAR에 사용된다. 몇몇 구현예에서, CD28이 사용된다. 여러 구현예에서, 더 길거나 더 짧은 힌지 도메인이 사용된다. 마찬가지로 scFv-함유 CAR의 경우 VH-링커-VL 또는 VL-링커-VH 포맷을 사용할 수 있는데, 상기 링커가 구조체 간에 다를 수 있음을 주목한다. 도 19는 VH-링커-VL-CD8 알파 힌지, VL-링커-VH-CD8 알파 힌지, VH-링커-VL-IgG4 힌지(짧은(short)), VH-링커-VL-RQRCD8 힌지(긴(long))의 4가지 비-제한적인 CAR 구조를 생성한 결과를 보여준다. 구조체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 삽입된 플래그 태그를 검출하여 발현을 측정하였다. FLAG(또는 다른 검출 태그)를 사용하는 본원에 제시된 임의의 구조체도 태그(및 임의의 상응하는 추가 서열 예를 들어 관련된 링커) 없이 계획되는 것으로 이해되어야 한다. 도 19의 발현 데이터는 평균 형광 강도(MFI)로 표시된다.

- [0308] 도 19에 나타낸 바와 같이, 이들 각각의 포맷은 사용된 링커와 무관하게 주르캣 세포(Jurkat cells)에 의해 발현되었다. 이 실험에서 발현은 링커의 선택에 의해 유의한 영향을 받지 않는 것으로 나타났지만, 상기 VH-링커-VL scFv 포맷은 더 큰 발현 수준을 초래하는 것으로 나타난다. 그러나, 여러 구현예에서, 상기 VL-링커-VH scFv 포맷은 여전히 이러한 scFv를 사용하는 CAR이 각각의 표적(예를 들어 BCMA)에 결합하고 이러한 표적-발현 종양 세포에 대한 세포독성을 유도할 수 있도록 충분히 잘 발현될 수 있다.
- [0309] 암 면역요법은 조작된 세포가 종양 세포에 결합되어 비-종양 세포(non-tumor cells)에 대한 표적화 및 작용을 크게 또는 완전히 피할 수 있다. 특정 CAR은 주로 반응성이거나, 또는 오직 인식하도록 조작된 종양 마커에 결합할 때에만 반응한다. 이를 본원에서 활성화라고 한다. 면역요법에 사용하기에 덜 바람직한 다른 CAR은 상응하는 종양 마커가 존재하지 않을 때에도 신호전달을 나타낸다. 이는 본원에서 토닉 신호전달이라고 지칭된다. 본원에서 논의되는 특정 실험은 활성화 대 토닉 신호전달의 비율에 관한 것이며, 여기서 상기 비율에 대한 더 큰 값은 주어진 CAR에 대한 더 큰 신호전달 및/또는 더 적은 토닉 신호전달을 나타낸다.
- [0310] 활성화 및 토닉 신호전달은 주르캣 세포가 사용되는 신호전달을 평가하기 위한 모델 시스템에서 평가된다(세포 치료에 사용되는 다른 세포에 대한 대용물(surrogate)). 주르캣 세포는 T 세포 활성화 및 신호전달 기전의 평가에서 널리 사용되는 불멸 인간 백혈병 T 세포주이다. 주르캣 세포는 1차 T 세포가 하는 완전한 레퍼토리 사이토카인을 분비하지 않으며 주르캣 세포는 유의한 세포 용해 활성이 없지만, 주르캣 세포는 IL-2를 생산하고 활성화 시 CD69를 상향조절한다. (예를 들어 유세포 분석법을 통해) 형광 항체를 이용하여 세포 표면 CD69 발현이 검출될 수 있는 용이성으로 인해, CD69 염색의 유도 발현 평가는 BCMA 발현 표적 세포(여기서는 MMS1 세포)의 존재 및 부재 하에 본원에 제공된 CAR을 발현하는 주르캣 세포의 활성화를 측정하는데 사용되었다.
- [0311] 도 20은 표적 세포 부재의 조작된 Jurkat 세포의 신호전달을 기준으로 플롯팅된 1:1의 E:T 비율(Jurkat:MMS1)로부터 얻어진 데이터를 나타낸다. 더 적은 수의 종양 세포가 존재하는 유사한 실험(예를 들어 10:1의 E:T, 데이터는 나타내지 않음)에 비해, 표적 종양 세포의 수가 증가하면 CD69의 발현이 증가한다. 산포도(scatterplot)로 나타낸 바와 같이, 몇몇 클론은 높은 활성화를 나타낼 뿐만 아니라 토닉 신호전달도 높아진다(위쪽). 마찬가지로, 일부 클론은 낮은 활성화와 높은 토닉 신호전달 또는 낮은 활성화와 낮은 신호전달(산포도의 좌측 부분)을 보인다. 그러나 클론을 선택하면 높은 활성화 및 낮은 토닉 신호전달을 나타내서 암 면역치료에 잠재적 활용에 매력적이게 된다.
- [0312] 토닉 신호전달 및 BCMA 결합과 관련된 데이터는 BCMA 결합-유도된 신호전달 대 토닉 신호전달의 비율을 생성하는 데 사용될 수 있으며, 이는 주어진 CAR을 타인과 온-타겟 성능 측면에서 비교하는 데이터 포인트로 기능할 수 있다. 도 21은 활성화/토닉 신호전달 비율의 측면에서 비교된 선택된 비-제한적 CAR 구조체를 보여준다. 구조체 A, 구조체 B, 및 구조체 C 각각은 상이한 아키텍처(architecture)(예를 들어 VH/VL 도메인, 링커 등의 순서)를 갖는다. 주어진 아키텍처 내에서, 각각의 클론 1, 2, 3, 및 4는 바인더 서열에 따라 다르다. 두 가지 다른 대조군 CAR 아키텍처를 대조군으로 사용하였다. 주어진 CAR 아키텍처 내의 종양 마커 바인더의 서열은 활성화/토닉 신호전달 비율의 측면에서 약간의 차이를 제공한다. 예를 들어 클론 A1은 클론 A4에 비해 비율이 높게 나타난다. 유사한 결과가 예를 들어 C4와 비교하여 클론 C1과 함께 보여진다. 클론 A3 또는 C3과 비교하여 클론 A1 또는 C1과 비교할 때 표시된 차이가 나타난다. 전체 클론 1과 클론 3 군들이 비슷한 패턴을 공유하는 반면, 클론 A3과 C3은 활성화/토닉 신호 비율이 현저히 높게 나타났다. 이러한 데이터는 CAR의 아키텍처가 활성화/토닉 신호전달 비율에 유의한 영향을 미칠 수 있음을 입증한다. 따라서, 몇몇 구현예에 따르면, 종양 마커가 최소로 발현되거나 전혀 발현되지 않을 때에도 일어나는 토닉 신호전달을 감소/제거하면서 CAR 아키텍처(예를 들어 VH-링커 A-VL, VL-링커 A-VH, VH-링커 B-VL, 또는 VL-링커 B-VH)는 종양 마커, 예를 들어 BCMA에 대한 CAR의 결합으로 인한 활성의 정도를 강화시키도록 최적화될 수 있다.
- [0313] 실시예 7 - 발현 및 기능에 관한 CAR 성분들의 평가
- [0314] 선행 실시예의 결과에 기반하여, BCMA-지시된 CAR 발현 및 기능을 평가하기 위한 추가 실험을 수행하였다. 본원에서 제공된 바와 같이, 2개의 시리즈의 CARs은 아래에서 개략적으로 설명되는 바와 같이 그들의 아키텍처에 있어서 다양하게 설계되고 구성되었다.

[0315] 표 1 - CAR 아키텍처

라운드1													
구조	바인더 클론	사슬 1	링크어	사슬 2	힌지	TM	IC	공-자극 (Co-stim)	자극(Stim)				
A	1-26 개	VH	GS3	VL	CD8	CD8	CD8	OX40	CD3z				
B	1-26 개	VL		VH	CD8								
C	1-26 개	VH		VL	짧은								
D	1-26 개	VH		VL	긴								
E.1	26 개 중의 첫번째	VL	위틀로우	VH	CD8					CD8	CD8	OX40	CD3z
E.2	26 개 중의 두번째	VL		VH	CD8								
E.3	26 개 중의 세번째	VL		VH	CD8								
E.4	26 개 중의 네번째	VL		VH	CD8								
라운드2													
F	1-19	VH	GS3	VL	CD8	CD8	CD8	Ox40	CD3z				
G	1-19	VH	위틀로우	VL									
H	1-19	VL		VH	CD28	CD28	CD28						
I	1-19	VH	GS3	VL									

[0316]

[0317]

상기 다양한 구조에 기초하여, 특정 CAR 아키텍처, 및 주어진 아키텍처 내의 특정 서열이 증진된 발현 및/또는 활성(예를 들어 감소된 토닉 신호전달을 갖는 상승된 활성화)을 초래하는지를 결정하기 위해 검정을 수행하였다.

[0318]

도 22는 주어진 CAR 아키텍처 내에서 각 클론의 발현과 관련된 한 시리즈의 히스토그램을 보여준다(아키텍처 F는 비-제한적 데이터로 이 도면에 나타냄). 도 22의 좌측 패널은 CAR을 암호화하는 핵산에 통합된 플래그 태그의 검출에 의해 측정된 바와 같이 주르켓 세포에 의한 CAR의 발현을 보여준다. 데이터는 MFI로 나타내며, 이는 특정 세포가 CAR을 발현하는 정도를 나타낸다(예를 들어 세포당 CAR의 카피). 알 수 있는 바와 같이, 주어진 아키텍처 내에서도 특정 클론 서열은 다른 것보다 더 강건하게 발현된다. 도 22의 우측 패널은 의도된 표적인 BCMA에 결합하는 주어진 아키텍처 내의 각 클론의 능력에 관한 것이다. 흥미롭게도, 일부 강력하게 발현하는 세포는 상승된 BCMA 결합을 달성했지만, 낮은 발현을 보이는 세포들 중 일부라도 여전히 더 높은 평균 발현을 보이는 다른 CAR과 동등하게 BCMA 결합을 나타내었다. 이러한 데이터는 발현에 중요한 서열일 뿐만 아니라 결합이 발현과 무관할 수 있음을 나타낸다. 따라서 CAR의 양 측면의 분석이 중요한데, 몇몇 구현예에서 저-발현 CAR은 상승된 결합 활성을 갖는 저 발현 수준을 극복할 수 있는 한 중요하다.

[0319]

위에서 논의한 바와 같이 평가할 수 있는 또 다른 특징은 (표적 결합에 기초한) 활성화 대 토닉 신호전달 비율이다. 이 비율은 특정 CAR에 대한 잠재적인 "온" 및 "오프-표적" 잠재력을 평가하는 데 도움이 된다. 도 23a 및 도 23b는 BCMA 결합-유도된 활성화(도 23a) 및 바람직하지 않은 토닉 신호전달(도 23b)과 관련된 산포도를 나타낸다. 도 23a에서 볼 수 있는 바와 같이, 몇몇 구조체(다양한 아키텍처로부터, 또한 아키텍처 내에서)는 BCMA에 대한 결합에 기초하여 CAR의 활성화를 달성한다. 이들은 10,000 벨류 역치 수평 라인(value threshold horizontal line) 위의 원으로 도시된다. 역치 라인(threshold line) 아래의 것은 스크린을 통과하기에는 활성도가 불충분한 것으로 판단되었다(적어도 활성화 단독에 기반). 도 23b는 토닉 신호전달(tonic signaling)에 대한 해당 데이터를 보여준다. 도 23b는 토닉 신호전달에 대한 해당 데이터를 보여준다. 또한, 모든 또는 실질적으로 모든 표적 중앙 마커가 없는 경우에도 활성화되는 CAR-발현 세포는 어느 정도의 토닉 신호전달을 나타내는 것으로 간주된다. 10,000 단위 역치 초과인 원들은 어느 정도의 토닉 신호전달을 보이는 것으로 판단된다. 역치 미만인 것들은 그렇지 않다. 그러나 토닉 신호전달 또는 활성화를 단독으로 평가하는 것은 부분적인 분석이다. 역치 초과인 활성화를 보이지만 토닉 신호전달을 보이지 않는 클론을 살펴보면, 5개의 CAR이 이러한 특정 스크린에서 이러한 기준을 충족시킨다. 이들은 도 23a에서 화살표로 식별된다.

[0320]

이러한 분석에 기반하여, 도 24는 CAR 발현의 함수로서 BCMA 결합의 산포도를 보여주며, 표지는 CAR의 다양한 그룹화를 나타낸다. 플롯의 좌측 하단은 충분히 잘 발현하지도 않고 충분한 BCMA 결합도 보이지 않는 CARs를 보여준다. 우측 하단은 잘 발현되지만 불충분한 BCMA 결합을 보이는 CAR의 하위집단을 보여준다. 플롯의 중앙 부분에 있는 2개의 클론은 양호한 발현 및 양호한 BCMA 결합을 보이는 것들이다. 그러나, 앞서 논의된 바와 같이, 주어진 CAR에 대한 보다 강력한 이해를 위해, 발현 및 활성화는 토닉 신호전달의 평가(또는 이의 결여)와 함께 고려될 수 있다.

- [0321] 도 25는 본원에서 제공된 CAR의 일부의 스크린에서 활성화/토닉 신호전달 비율의 산포도를 나타낸 것이다. 활성화/토닉 신호전달 비율은 Y축에 표시되며, 발현은 X축에 표시된다. 선행 도면과 마찬가지로, 좌측 하단에 있는 것들은 저 발현 또는 저 활성화/토닉 신호전달 비율(상기 비율을 낮추는 원하는 정도의 토닉 신호전달보다 큰 것을 나타냄)을 보인다. 우측 하단은 합리적인 발현을 보이지만, 바람직하지 않은 활성화/토닉 신호전달 비율을 보이는 클론을 보여준다. 그래프의 중앙 부분에 있는 많은 수의 클론들은 다양한 양의 허용가능한 발현 수준과 높은 활성화/토닉 신호전달 비율을 보인다.
- [0322] CAR 아키텍처의 영향에 대한 추가적인 평가는 CAR 아키텍처의 특정 특징이 발현, 표적 결합, 또는 활성화/토닉 신호전달에 지배적인 영향을 미치는지 여부를 결정하기 위해 수행되었다. 도 26a 및 도 26b는 위틀로우(Whitlow) 대 GS 링커를 사용하였을 때의 활성화/토닉 신호전달 비율(도 26a) 및 발현(도 26b)과 관련된 데이터를 보여준다. 특정 개별 클론이 독특하게 거동하는 것으로 나타난 반면, 대다수의 클론들은 활성화/토닉 신호전달 또는 발현의 관점에서 기준(norm)에서 벗어나는 것으로 나타나지 않았다. scFv에서 중쇄와 경쇄의 배향을 비교하였을 때 발현과 활성화/토닉 신호전달 비율의 분포가 다소 더 큰 것으로 확인되었다. 도 26c는 VH-링커-VL scFv 구조(Y축) 대 VL-링커-VH scFv 구조(X축)를 비교하였을 때의 활성화/토닉 신호전달 비율을 보여준다. 특정 클론들은 VH-VL 오더링(ordering)으로 활성화가 개선된 것으로 나타난 반면, 다른 클론들은 VL-VH 오더링으로 활성이 더 우수한 것으로 나타난다. 유사하게, 발현에 대한 클론 특이적 결과는 도 26d에 나타나 있다.
- [0323] 이 스크린에서 특정 CAR은 막관통 및 신호전달 도메인의 하위 성분이 다르기 때문에, (OX40 공-자극 도메인과) CD8 알파로부터 상응하는 도메인을 사용한 것과 비교하여, 힌지, 막관통 및 세포내 도메인에 대한 CD28-유래된 서열과 CAR의 활성화/토닉 신호전달 비율을 비교하기 위해 추가적인 비교가 이루어졌다. 여기서, 도 26e에 나타난 데이터는 CD28 도메인과는 반대로 CD8-OX40 도메인을 사용한 경우 활성화/토닉 신호전달 비율 향상에 대한 일반적인 경향을 제시하는 것으로 보인다. 이는 도 26f에 나타난 바와 같이 CAR 구조체의 발현에 대해서도 더 명확하게 나타나는 것으로 보인다. 이러한 데이터는 구조 및 서열-기반의 변화가 CAR 발현, 결합 및 활성화에 영향을 미칠 수 있음을 보여준다. 본원에 개시된 몇몇 구현예에 따르면, BCMA-지시된 CAR은 면역 세포(예를 들어 NK 세포)에서 적절한 발현을 달성할 수 있으며, 바람직한 수준의 활성화 및 토닉 신호전달을 달성할 수 있다.
- [0324] 실시예 8 - VHH-함유 CAR의 평가
- [0325] 또한, scFv 중앙 바인더 포맷이 아니라 낙타과-기반 중앙 바인더(camelid-based tumor binder)를 사용하는 CAR도 본원에 제공된다. 몇몇 구현예에서는 1가(단일 VHH) CAR을 사용하는 반면, 다른 구현예에서는 2가(VHH-링커-VHH) CAR 포맷을 사용한다. 상기 논의된 실시예와 유사하게, VHH-CAR 아키텍처에 대한 구조적 또는 서열-기반 변경이 VHH-CAR을 발현하는 세포의 발현, 표적 결합 및/또는 활성화에 영향을 미치는지 여부를 결정하기 위한 실험을 수행하였다. 1가 또는 2가 VHH-CAR을 주르켓에서 발현시키고, 발현, BCMA 결합 및 활성화/토닉 신호전달 비율에 대해 평가하였다.
- [0326] 도 27은 BCMA 결합에 대한 1가 및 2가 VHH-CAR의 발현 정도를 도시한 데이터이다. 이러한 데이터는 개별 클론들 중에서 차이가 있지만 1가(원) 및 2가(삼각형) VHH-CAR 모두에 대해 상대적으로 유사한 발현 정도를 나타낸다. 이러한 데이터는 또한 2가 VHH-CAR이 BCMA 결합 증가를 나타내는 경향을 보여주는 것으로 나타난다. 이는 2가 VHH-CAR의 이중 결합 도메인 포맷이 주어진다면 전혀 예상치 못한 것은 아니다.
- [0327] 도 28a 및 도 28b는 이러한 초기 제안을 더욱 뒷받침한다. 도 28a는 2가 대 1가 VHH-CAR의 발현에 대한 데이터이다. 산포도에 나타난 바와 같이, 대부분의 데이터 점들은 등가의 역치선 위에 놓여 있어 2가 VHH-CAR에 대해 발현이 더 크다는 것을 나타낸다. 이와 유사하게, 더욱 심오한 것은 아니지만, 1가 VHH-CAR에 비해 2가 VHH-CAR을 사용할 때 BCMA 결합이 더욱 강력하게 나타나는 결과를 도 28b에 나타낸다.
- [0328] 그러나, 상기 논의된 바와 같이, 표적 중앙 마커의 부재 하의 CAR을 발현하는 세포의 활성화와 표적 중앙 마커의 결합 사이의 잠재적인 상호작용(예를 들어 토닉 활성화)을 이해할 필요가 있다. 도 29a는 2가 및 1가 VHH-CAR에 대한 토닉 신호전달의 검출과 관련된 데이터이다. 이러한 데이터는 2가 VHH-CAR 포맷에서 토닉 신호전달이 더욱 우세하다는 것을 시사한다. 도 29b는 1가 대 2가 포맷 중의 비율의 상당히 고른 분포를 보여주는 활성화/토닉 신호전달 비율을 평가한다. 이는 부분적으로 2가 구조체에 의해 나타나는 BCMA 결합의 명백한 증가에 의해 설명될 수 있다. 따라서, 2가 포맷에서 분자(numerator)(결합/활성화)와 분모(denominator)(토닉 신호전달) 모두 증가하여 비율에 따른 평가가 1가와 더욱 유사하게 나타난다.
- [0329] 도 29c 및 D는 1가 및 2가 VHH-CAR에 대한 가장 바람직한 특성을 나타내는 6개의 VHH-CAR을 사용하여 데이터의

부분집합을 분석한다. 도 29c는 활성화/토닉 신호전달 비율을 비교한 히스토그램이다. 이러한 데이터는 1가 포맷이 2가 포맷보다 일반적으로 더 높은 비율을 보여준다는 것을 시사한다. 도 29b에서는 2가 포맷의 토닉 신호 전달이 1가 구조체보다 훨씬 더 크다는 것을 보여준다.

[0330] 이들 각각의 실시예를 고려하여, scFv-CAR과 VHH-CAR을 비교하기 위해 분석을 수행하였다. 이러한 데이터는 도 30a 및 도 30b에 도시되어 있다. 도 30a는 발현의 함수로서 토닉 신호전달 정도를 보여준다. 후보 VHH-CAR은 후보 scFv(뿐만 아니라 대조군 VHH-CAR)보다 유의하게 더 큰 토닉 신호전달을 나타낸다. 도 30b는 세포 활성화와 관련된 데이터를 나타내며, VHH-CAR은 일반적으로 scFv보다 활성화가 높으며, scFv CAR이 BCMA와 결합할 때 명목상 활성화가 낮으며, scFv CAR 포맷은 극적으로 낮은 토닉 신호전달과 함께 바람직한 방식으로 수행하는 것으로 나타나고, 따라서 세포 면역요법에 사용하기 위한 후보일 가능성이 높다. 이러한 특정 데이터는 scFv-CAR이 바람직하다는 것을 시사하는 반면, 일부 구현예/포맷에서는 VHH-CAR도 활용될 수 있다. 그럼에도 불구하고, 이러한 데이터는 주어진 CAR의 특징을 충분히 이해하기 위해 이러한 매개 변수 각각의 독립적인 평가가 보장될 수 있음을 시사한다.

[0331] 상기 개시된 구현예의 특정 특징 및 측면의 다양한 조합 및 하위 조합이 이루어질 수 있고, 본 발명의 하나 이상 내에 여전히 속할 것으로 예상된다. 또한, 구현예와 관련된 임의의 특정 특징, 측면, 방법, 특질, 특성, 자질, 속성, 요소 등에 대한 여기 개시는 여기에 제시된 다른 모든 구현예에 사용될 수 있다. 그러므로, 개시된 구현예의 다양한 특징 및 측면이 개시된 발명의 다양한 방식을 형성하기 위해 서로 조합되거나 치환될 수 있음이 이해되어야 한다. 따라서, 본원에 개시된 본 발명의 범위는 상기 기재된 특정 개시 구현예에 의해 제한되어서는 안됨이 의도된다. 또한, 본 발명은 다양하게 변형되기 쉽고, 대안적인 형태, 이의 특이적 예가 도면에 도시되었으며 여기에 상세하게 기재되어 있다. 그러나, 본 발명은 개시된 특정 형태 또는 방법으로 제한되어서는 안되고, 그와 반대로 본 발명은 기재된 다양한 구현예 및 첨부된 청구항의 정신 및 범위 내에 속하는 모든 변형, 등가물 및 대안을 포함할 것으로 이해되어야 한다. 본원에 개시된 임의의 방법은 열거된 순서로 수행될 필요는 없다. 본원에 개시된 방법은 실무자에 의해 취해지는 특정 행동을 포함하나; 이는 명시적으로든 또는 함축적으로든 상기 행동의 임의의 제3자 지시를 또한 포함할 수 있다. 또한, 본 개시의 특징 또는 측면들이 마쿠시(Markush) 그룹에 관하여 기재된 경우, 당업자는 본 개시가 이로써 마쿠시 그룹의 임의의 개별 멤버 또는 멤버 중 하위 그룹에 관하여도 기재된 것임을 인식할 것이다.

[0332] 본원에 개시된 범위는 임의의 및 모든 중복, 하위 범위 및 이의 조합을 또한 포함한다. "최대(up to)", "적어도(at least)", "초과(greater than)", "미만(less than)", "사이(between)" 등과 같은 언어는 나열된 수를 포함한다. "약(about)" 또는 "대략(approximately)"과 같은 용어가 앞에 오는 수는 나열된 수를 포함한다. 예를 들어 "약 90%(about 90%)"는 "90%"를 포함한다. 일부 구현예에서, 95% 이상의 서열 동일성을 갖는 서열은 기준 서열에 대한 96%, 97%, 98%, 99% 및 100%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 또한, 서열이 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열을 "포함하는(comprising)" 것으로 개시된 경우, 상기 언급은 달리 지시되지 않는 한, 상기 서열이 재인용된 서열을 "포함한다(comprises)", "구성한다(consists of)" 또는 "본질적으로 구성한다(consists essentially of)"를 또한 포함해야 한다.

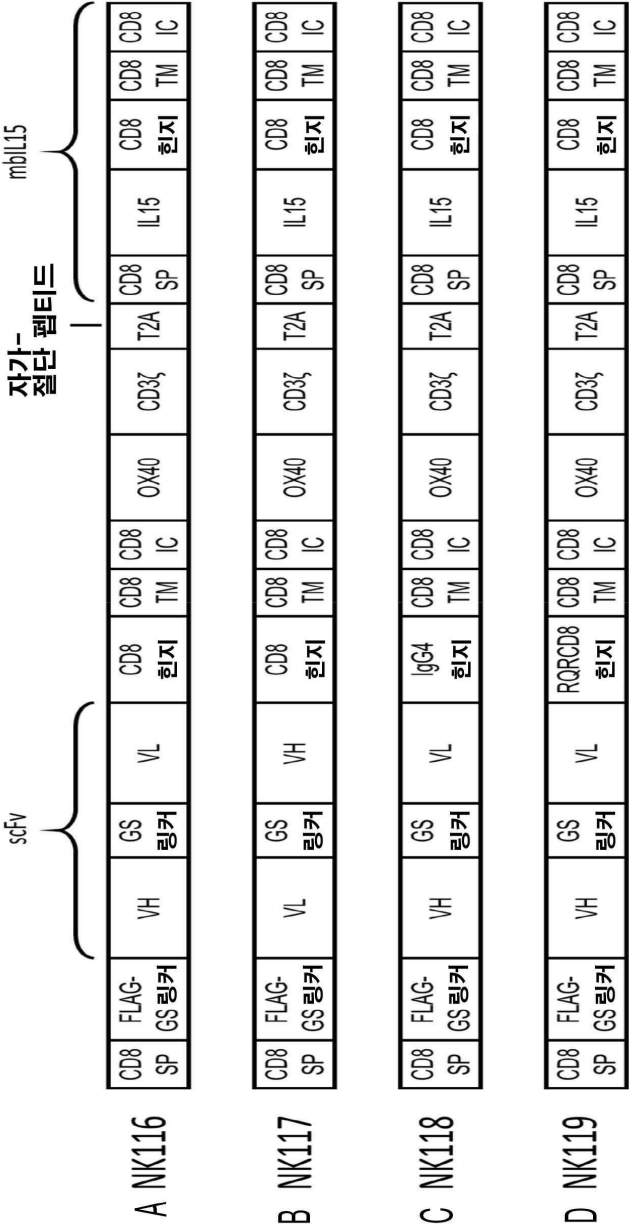
[0333] 몇몇 구현예에서, 핵산 코드의 퇴화를 설명하는 동시에 본원에 개시된 임의의 핵산에 대응하는 아미노산 서열이 제공된다. 더욱이, 여기에 명백하게 개시된 것과 다르나 기능적 유사성 또는 등가를 갖는 (핵산이든 또는 아미노산이든) 상기 서열은 본 발명의 범위 내에서 또한 고려된다. 상기는 돌연변이, 절단, 치환 또는 기타 유형의 변형을 포함한다.

[0334] 본원에서 사용된 임의의 제목 또는 부제목은 조직화를 위한 것이며, 본원에 개시된 구현예의 범위를 제한하는데 사용되어서는 안된다.

[0335] 본원에 인용된 모든 참고문헌, 예를 들어 비-제한적으로 공개 및 비공개 출원, 특허 및 문헌 참고문헌은 그 전체가 본원에 참고로 포함되며, 이로써 본 명세서의 일부를 구성한다. 참고로 포함된 간행물 및 특허 또는 특허 출원이 명세서에 포함된 개시내용과 모순되는 정도로, 본 명세서는 그러한 모순되는 임의의 자료를 대체 및/또는 우선하도록 의도된다.

도면

도면1



도면2

비-제한적 조합	HCDR1 서열번호 :	HCDR2 서열번호 :	HCDR3 서열번호 :
1	104	130	156
2	105	131	157
3	106	132	158
4	107	133	159
5	108	134	160
6	109	135	161
7	110	136	162
8	111	137	163
9	112	138	164
10	113	139	165
11	114	140	166
12	115	141	167
13	116	142	168
14	117	143	169
15	118	144	170
16	119	145	171
17	120	146	172
18	121	147	173
19	122	148	174
20	123	149	175
21	124	150	176
22	125	151	177
23	126	152	178
24	127	153	179
25	128	154	180
26	129	155	181

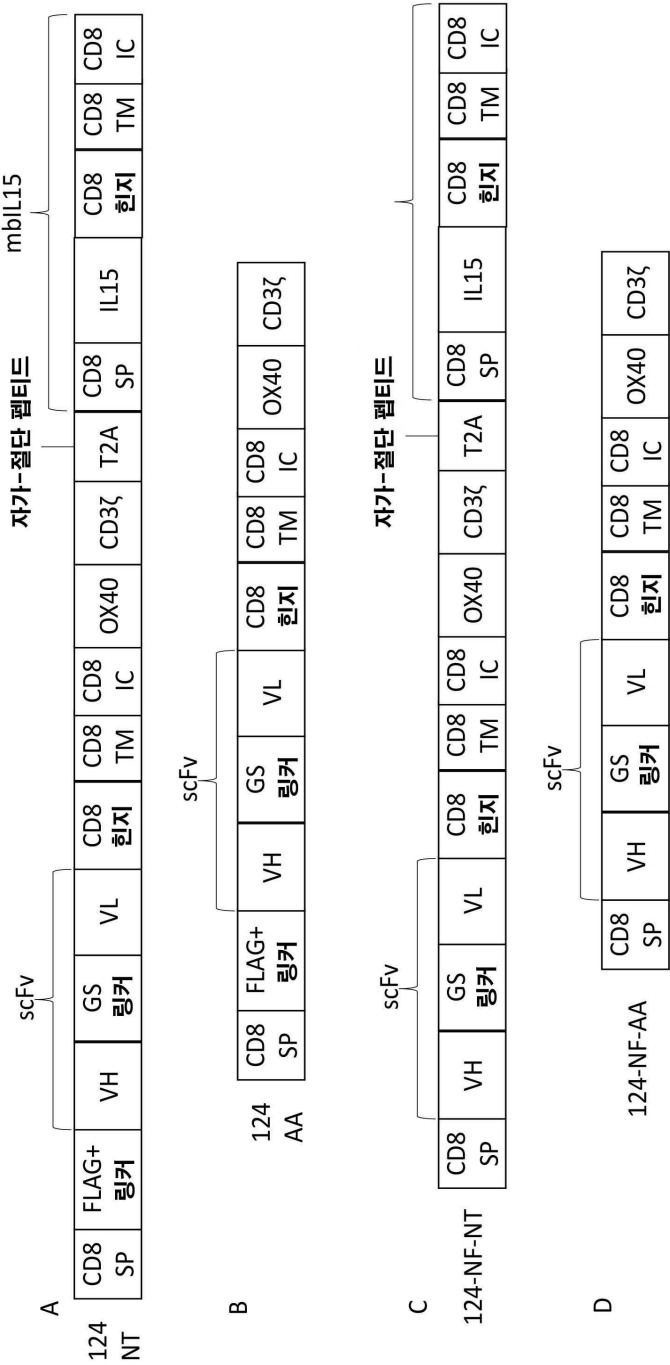
도면3

비-제한적 조합	LCDR1 서열번호 :	LCDR2 서열번호 :	LCDR3 서열번호 :
1	385	411	437
2	386	412	438
3	387	413	439
4	388	414	440
5	389	415	441
6	390	416	442
7	391	417	443
8	392	418	444
9	393	419	445
10	394	420	446
11	395	421	447
12	396	422	448
13	397	423	449
14	398	424	450
15	399	425	451
16	400	426	452
17	401	427	453
18	402	428	454
19	403	429	455
20	404	430	456
21	405	431	457
22	406	432	458
23	407	433	459
24	408	434	460
25	409	435	461
26	410	436	462

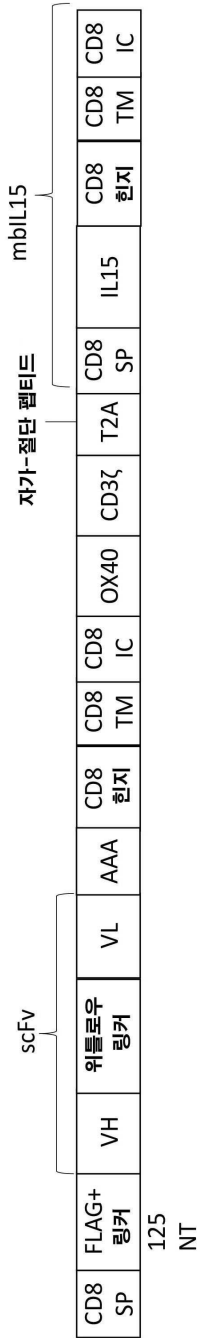
도면4

비-제한적 조합	결합 모이어티 명칭	중쇄 가변 영역 (VH) 서열번호 :	경쇄 가변 영역 (VL) 서열번호 :
1	scFv.1	260	541
2	scFv.2	261	542
3	scFv.3	262	543
4	scFv.4	263	544
5	scFv.5	264	545
6	scFv.6	265	546
7	scFv.7	266	547
8	scFv.8	267	548
9	scFv.9	268	549
10	scFv.10	269	550
11	scFv.11	270	551
12	scFv.12	271	552
13	scFv.13	272	553
14	scFv.14	273	554
15	scFv.15	274	555
16	scFv.16	275	556
17	scFv.17	276	557
18	scFv.18	277	558
19	scFv.19	278	559
20	scFv.20	279	560
21	scFv.21	280	561
22	scFv.22	281	562
23	scFv.23	282	563
24	scFv.24	283	564
25	scFv.25	284	565
26	scFv.26	285	566

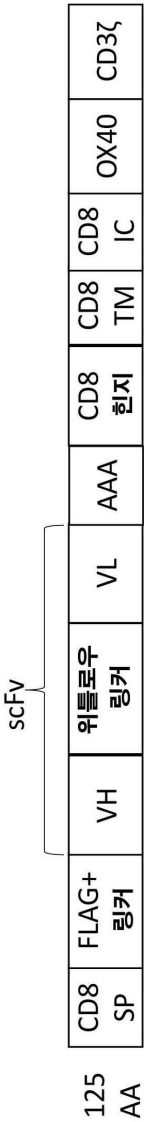
도면5



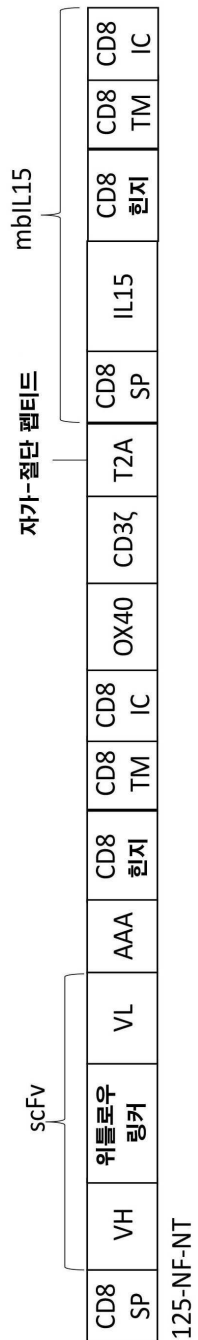
도면6a



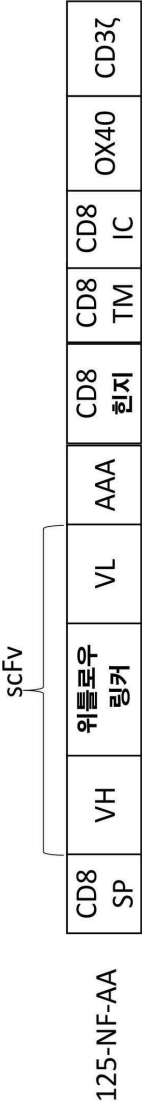
도면6b



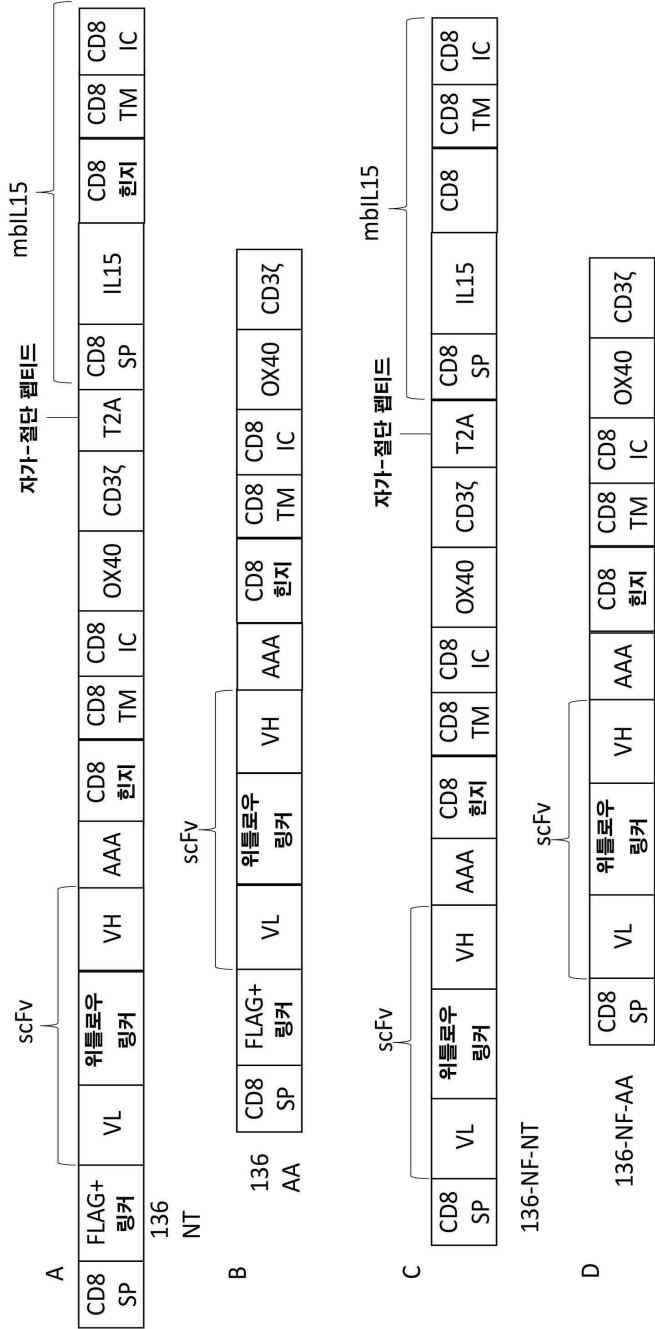
도면 6c



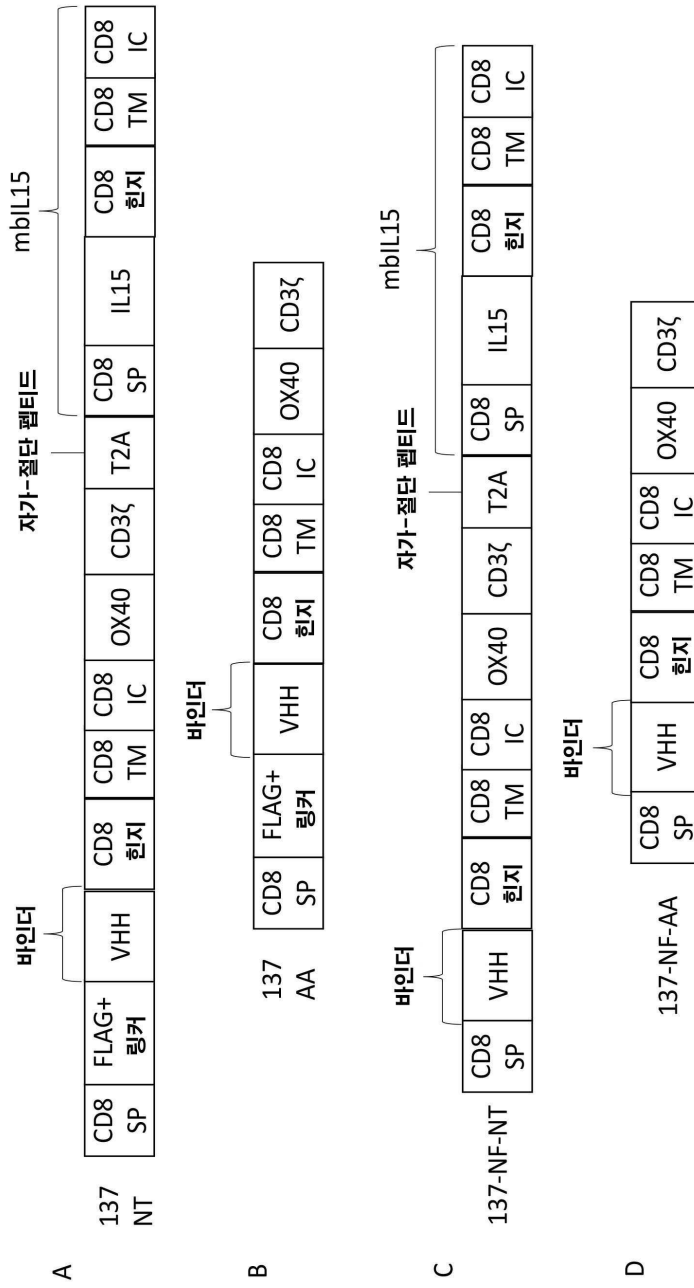
도면6d



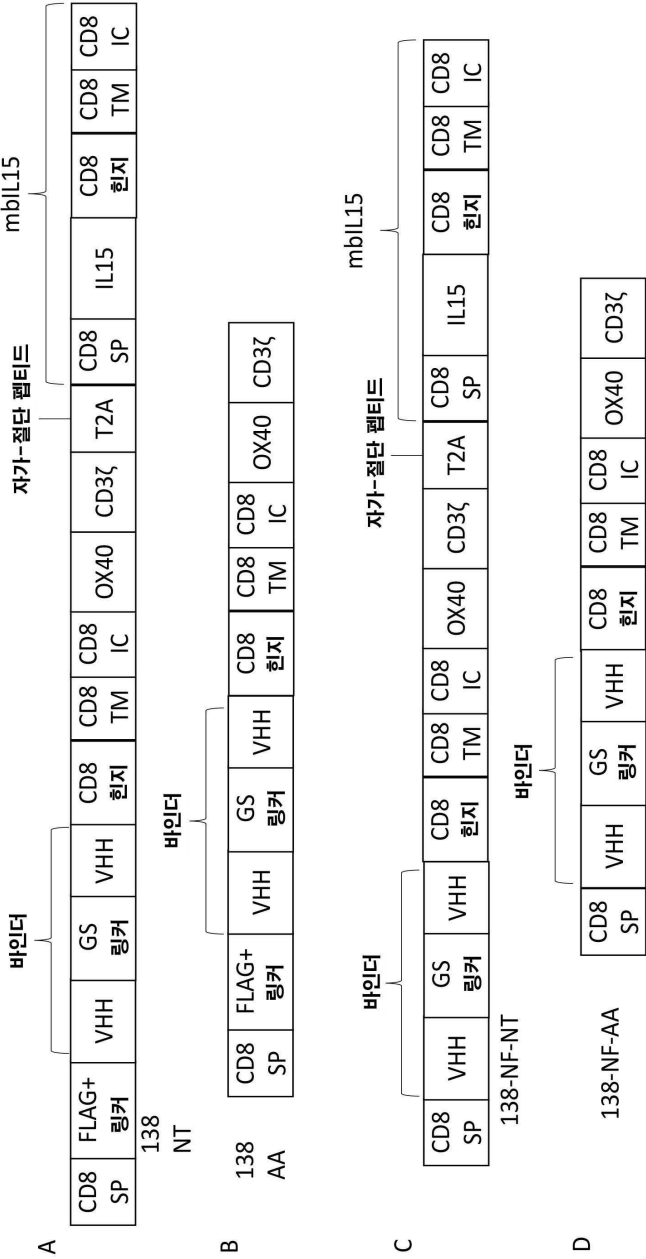
도면7



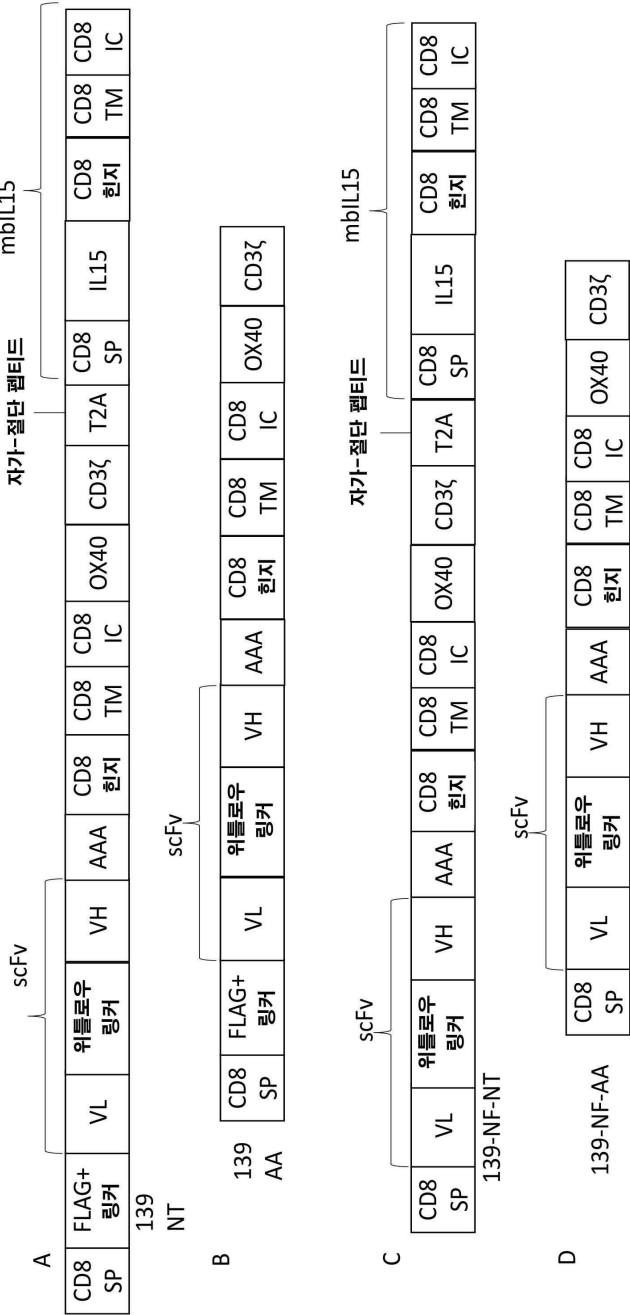
도면8



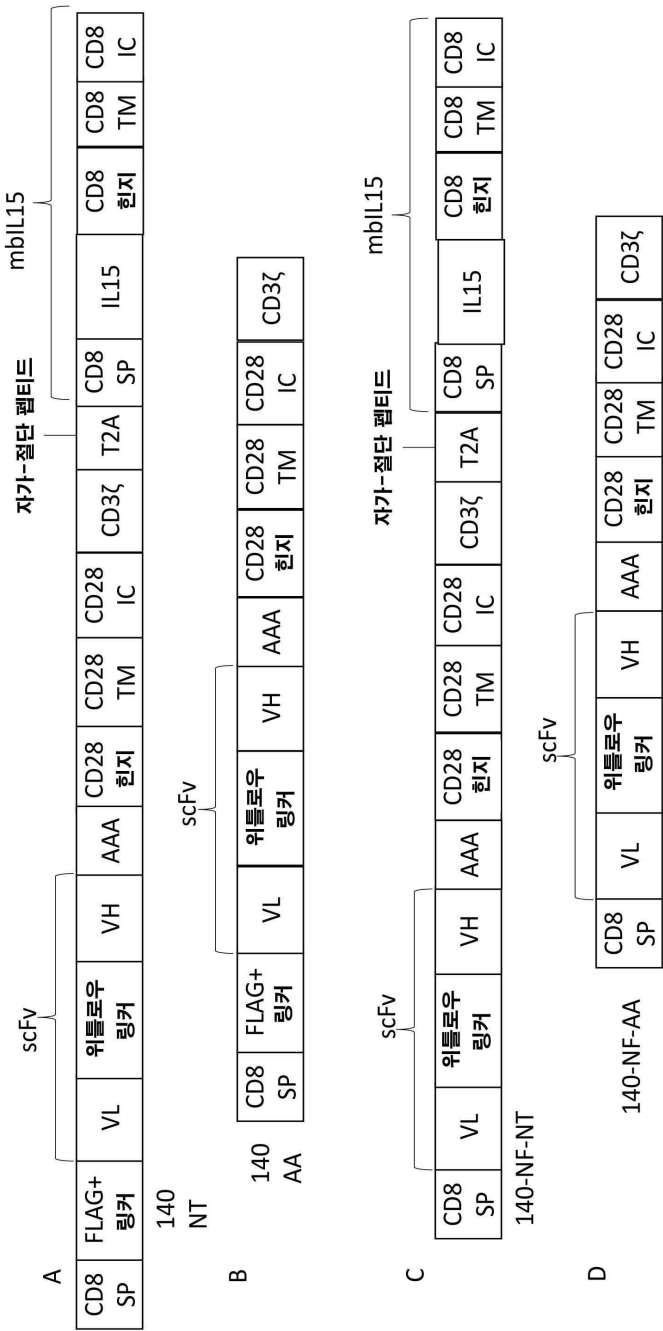
도면9



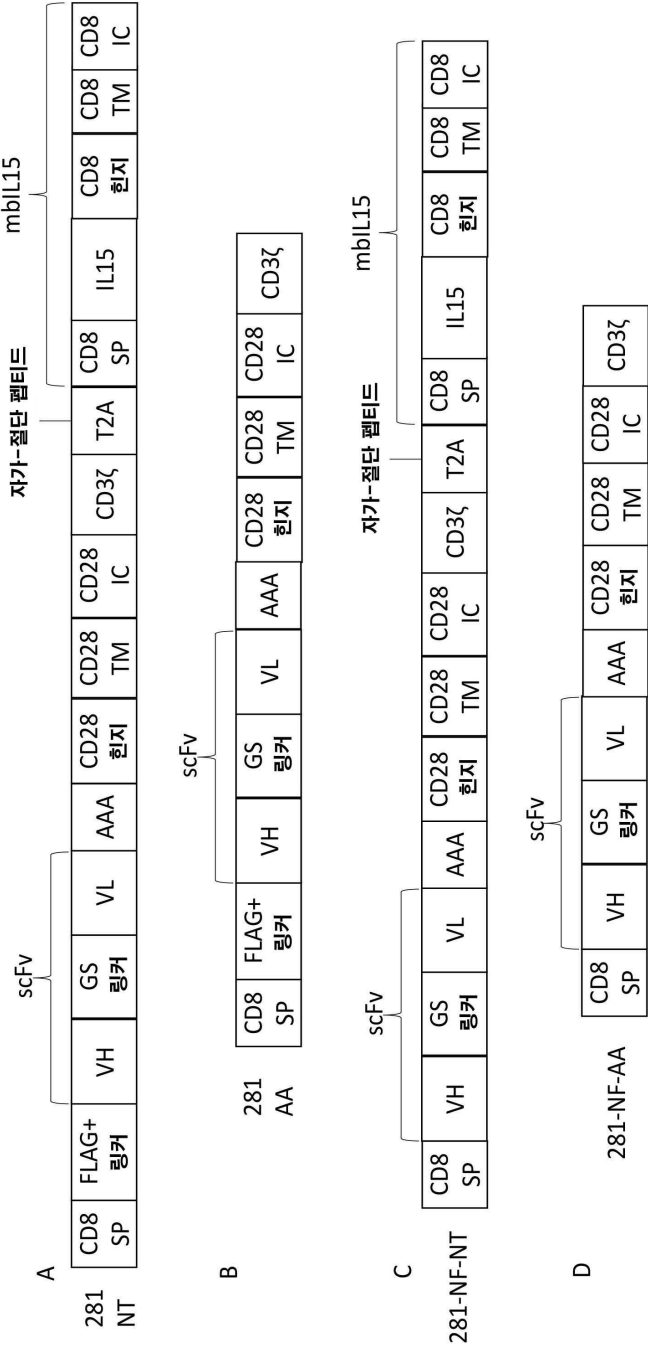
도면10



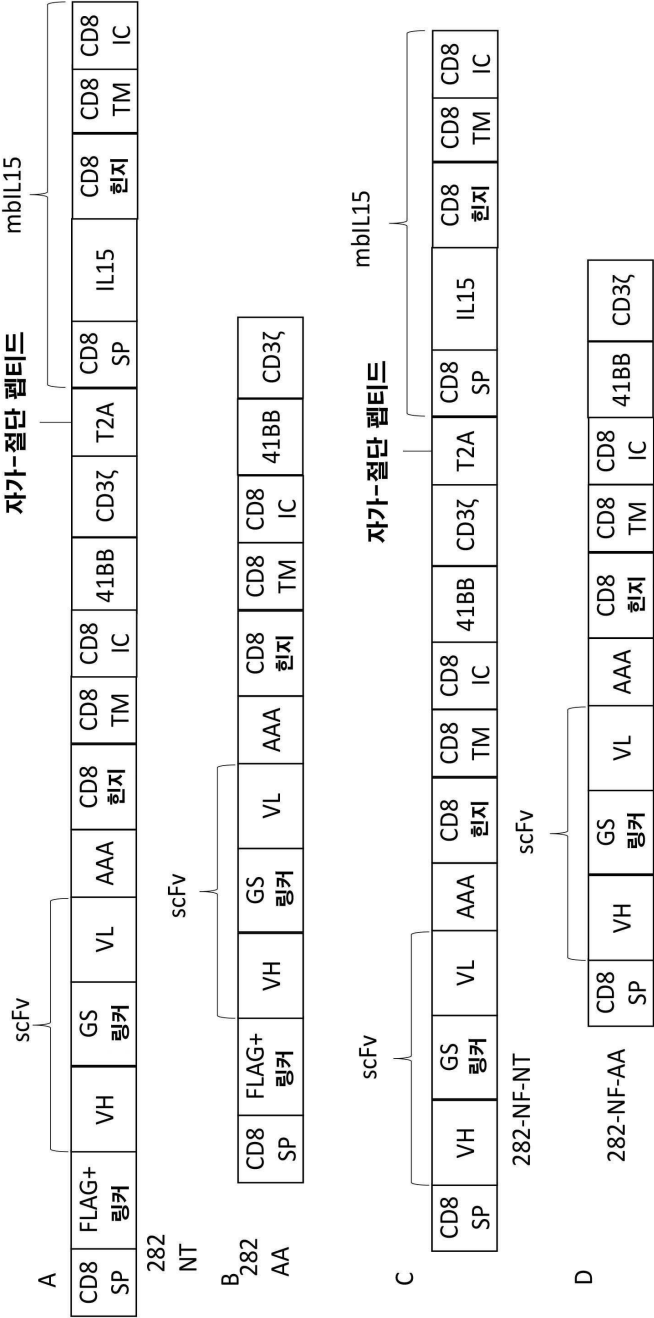
도면11



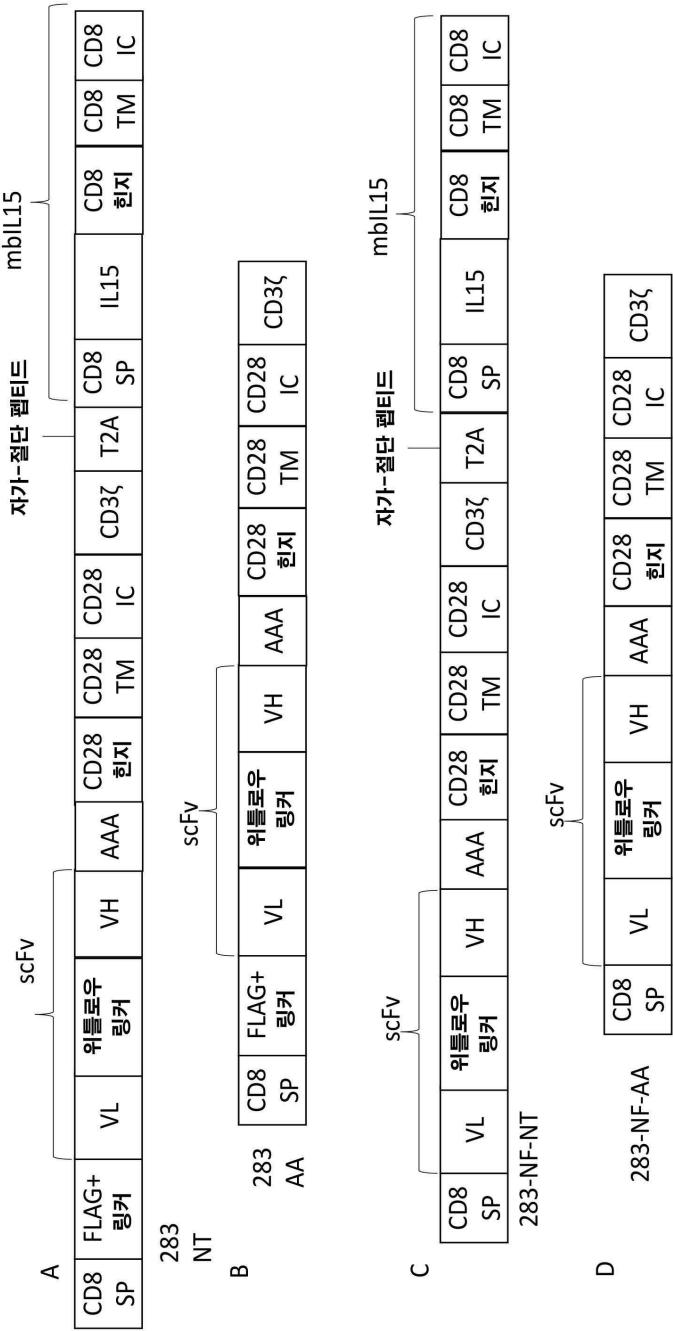
도면12



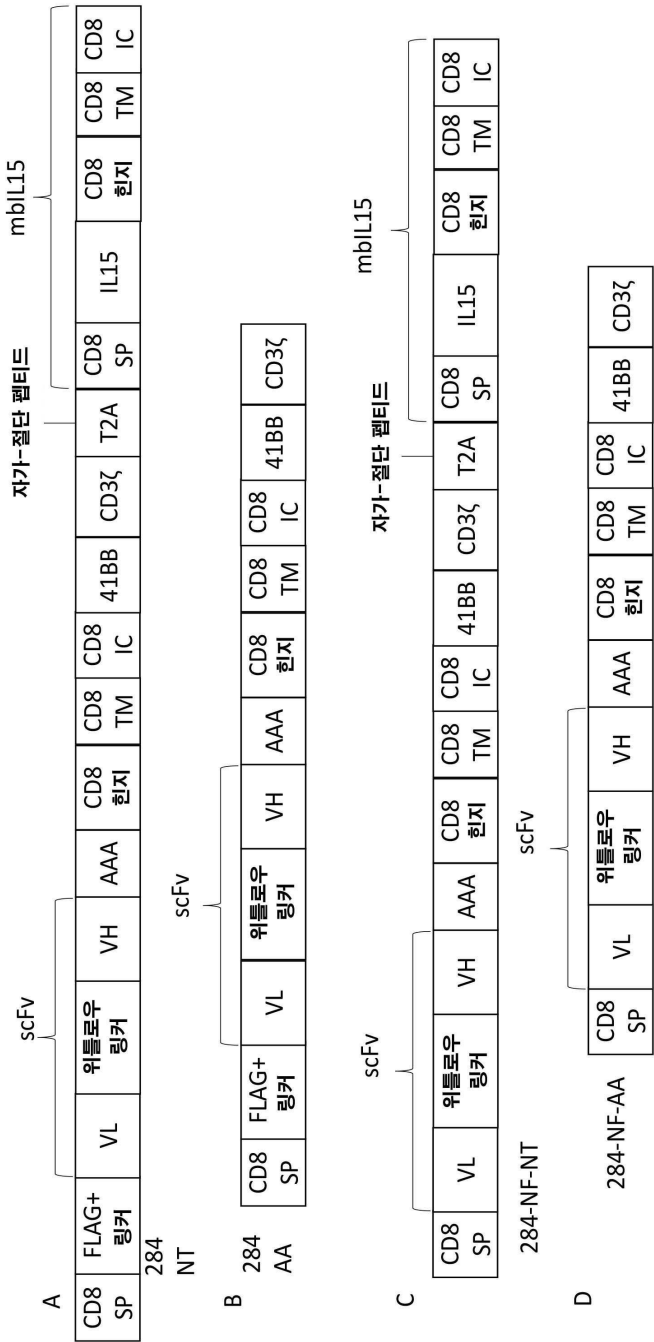
도면13



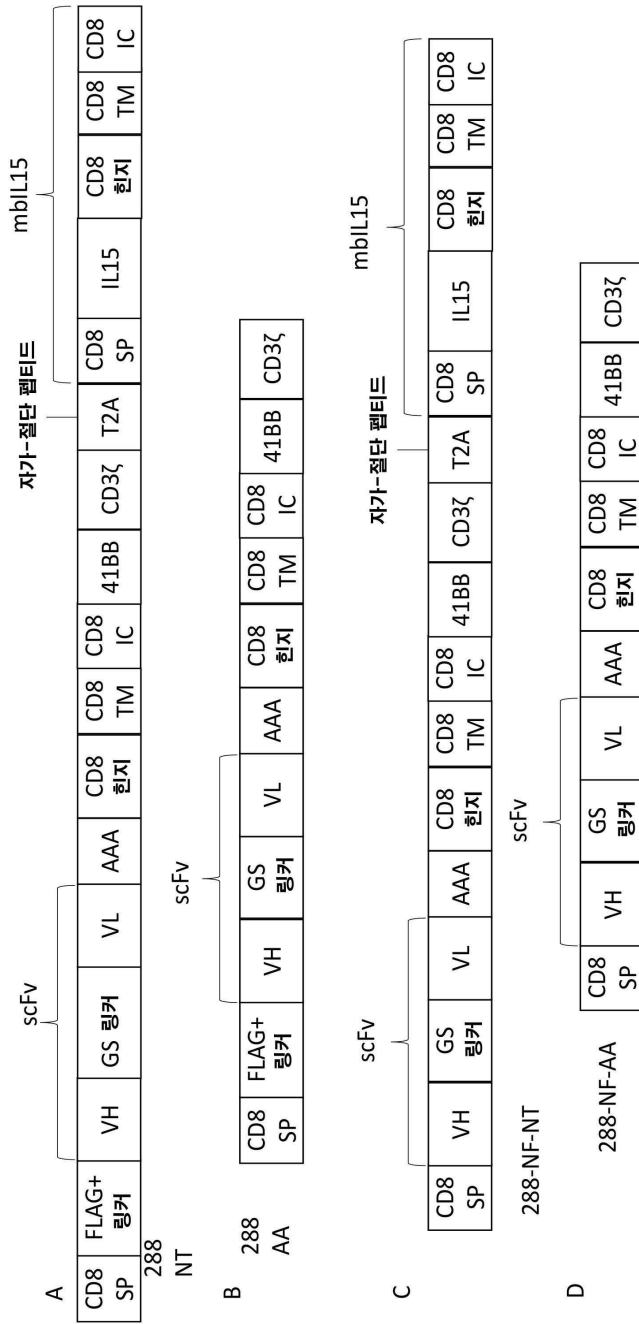
도면14



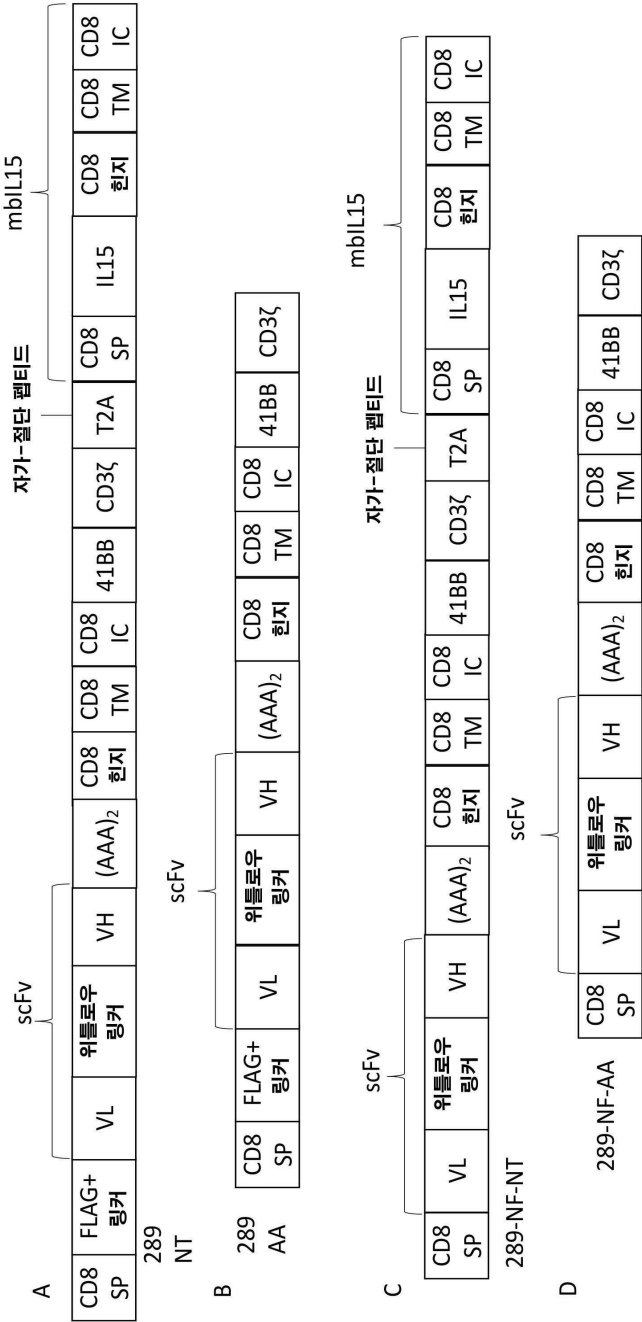
도면15



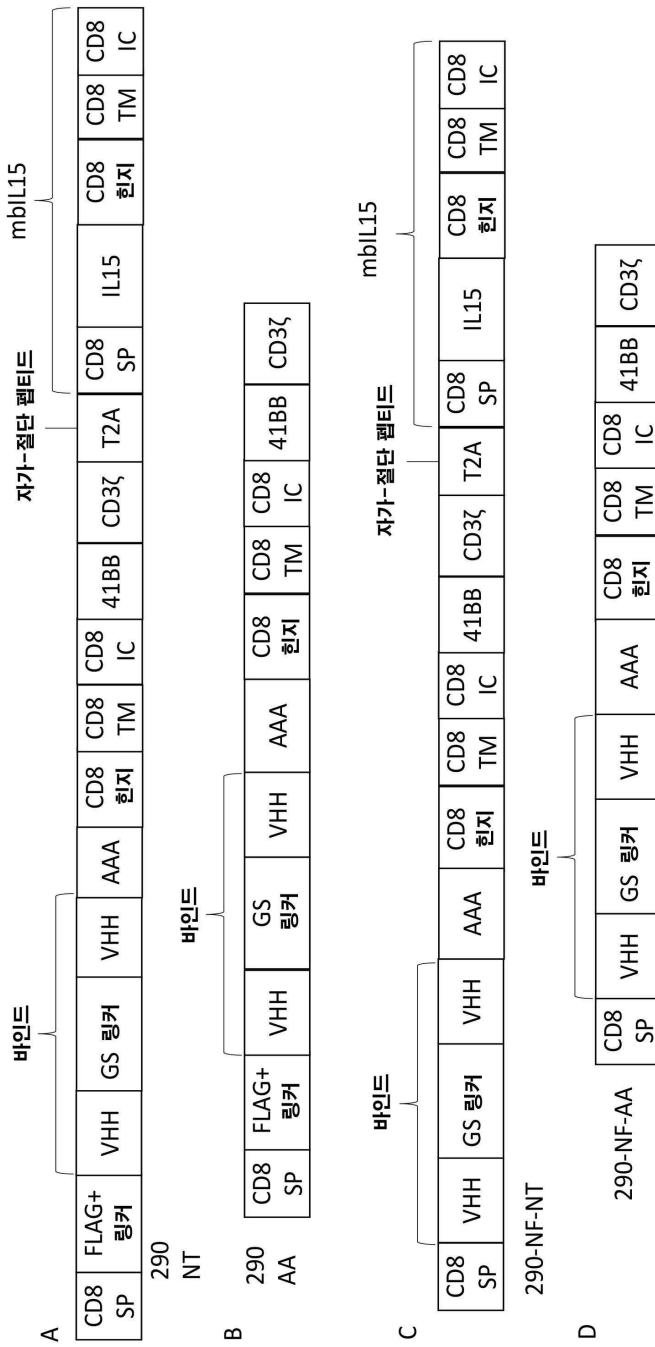
도면16



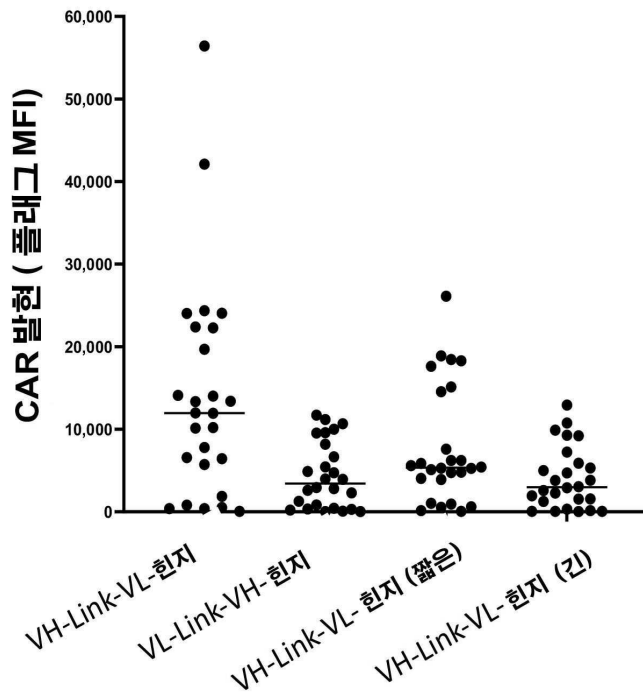
도면17



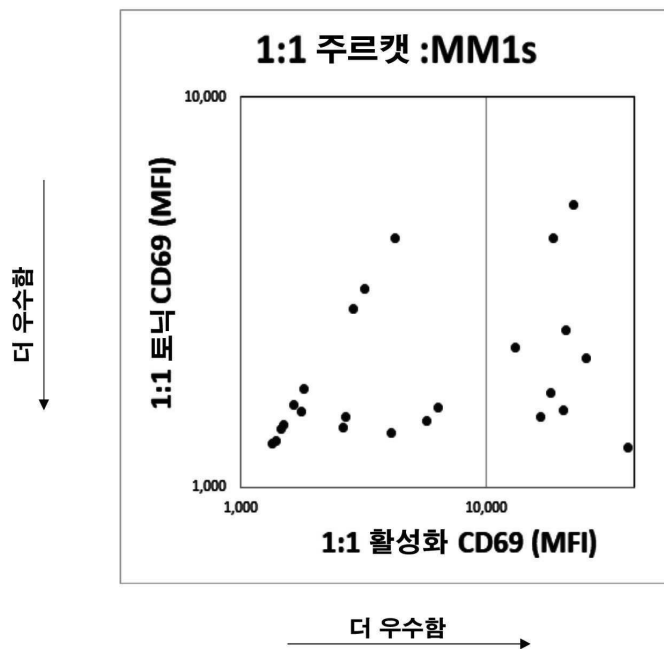
도면18



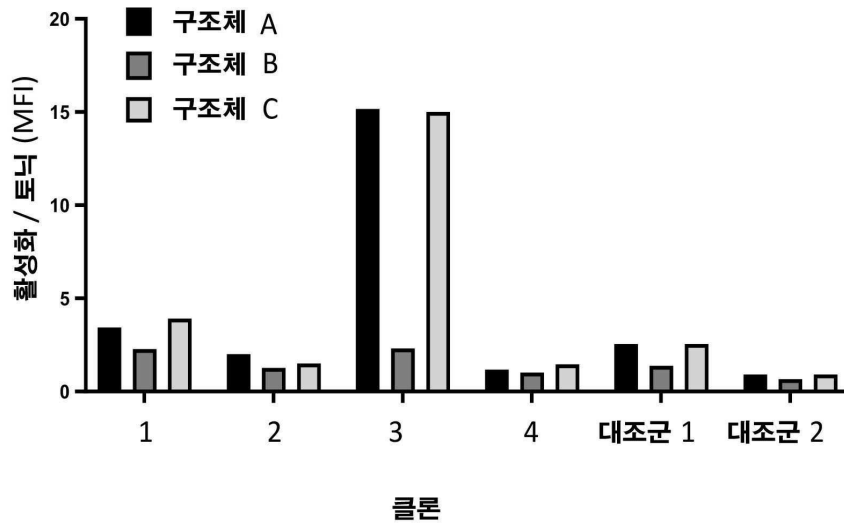
도면19



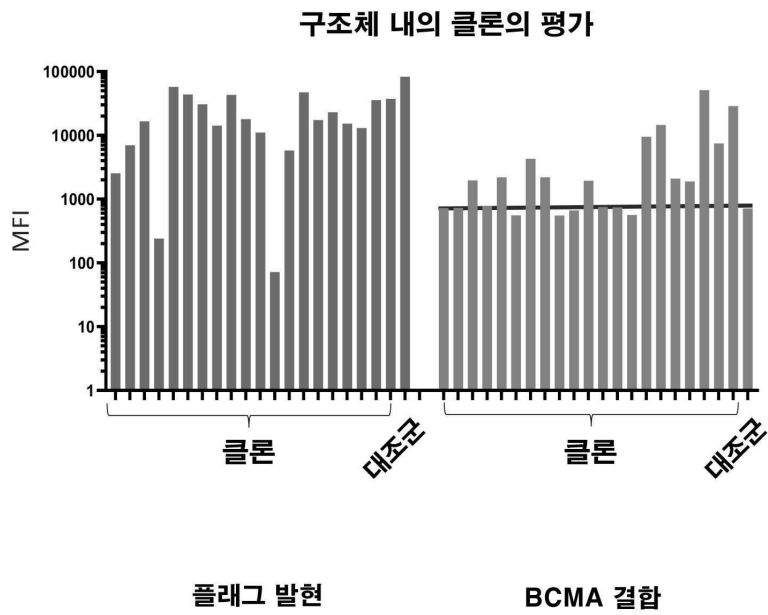
도면20



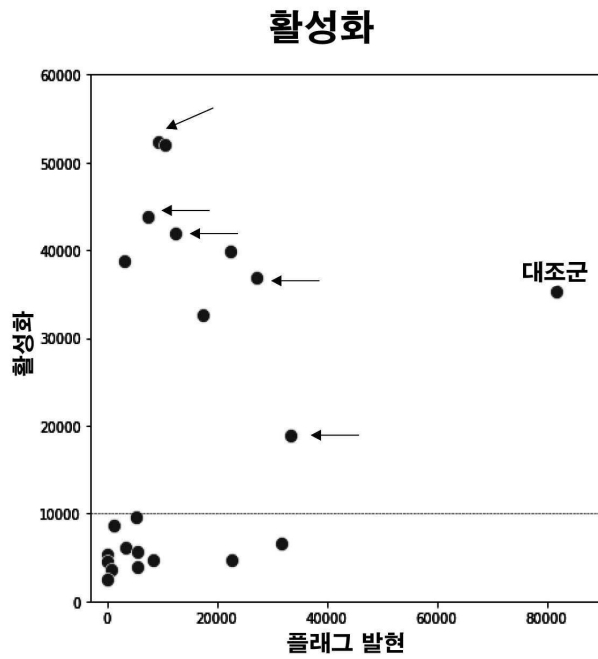
도면21



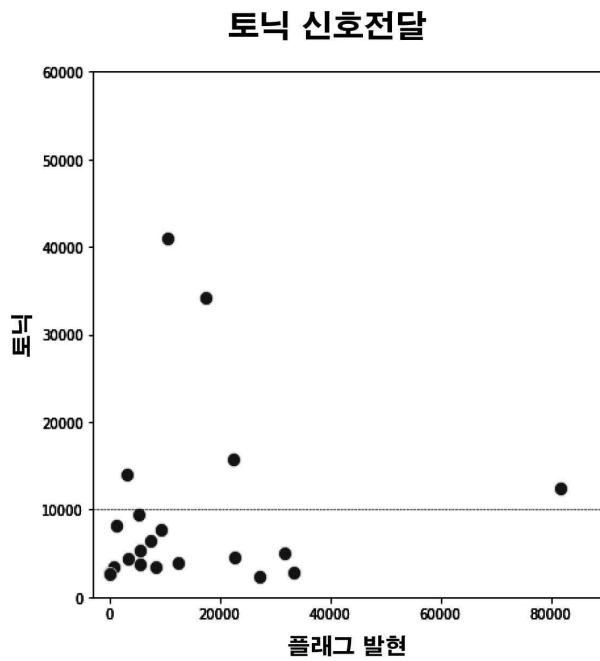
도면22



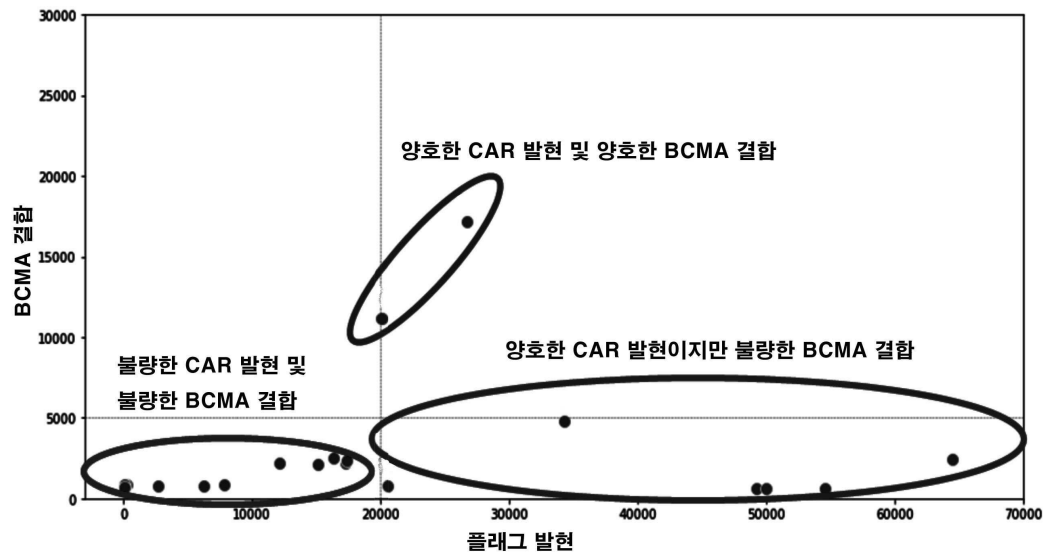
도면23a



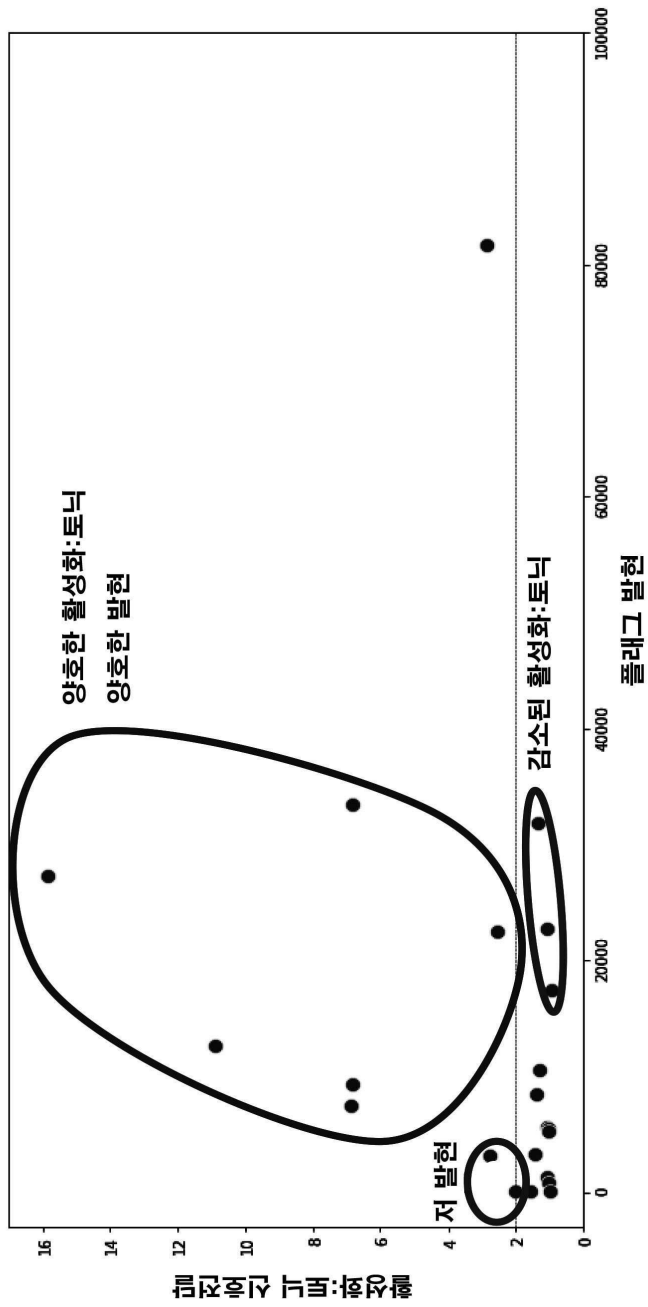
도면23b



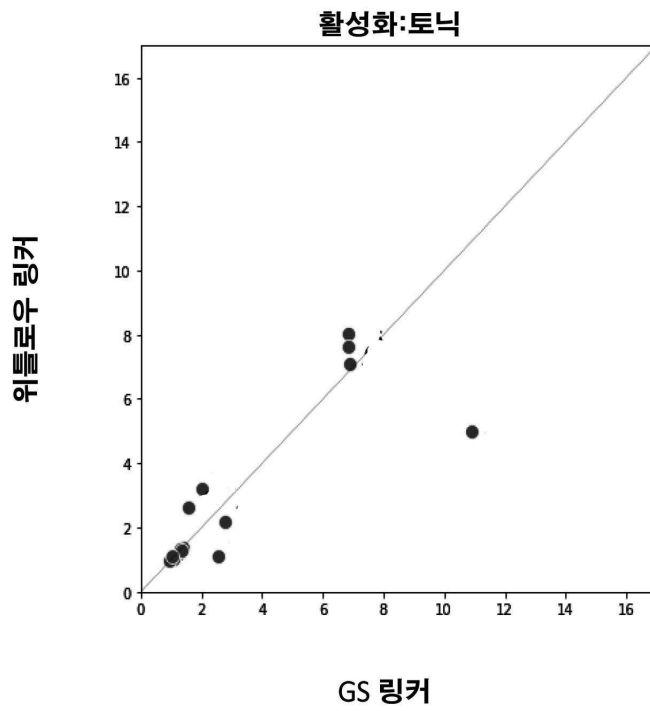
도면24



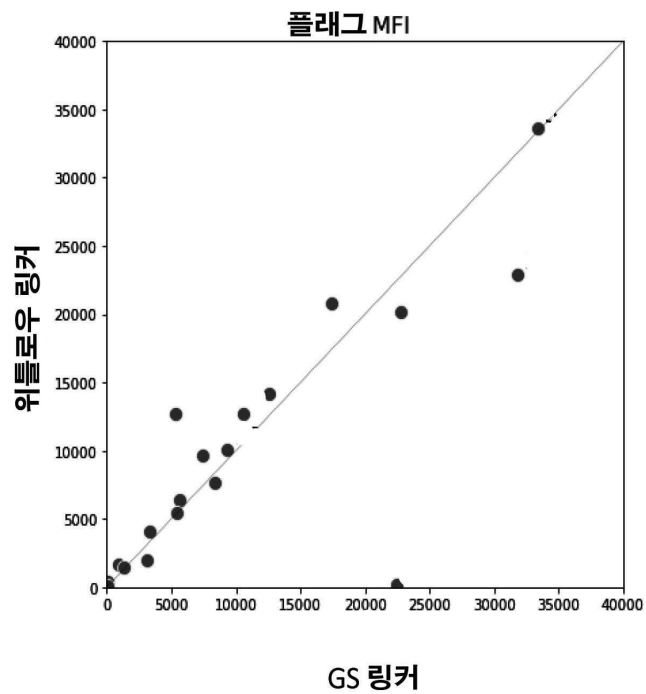
도면25



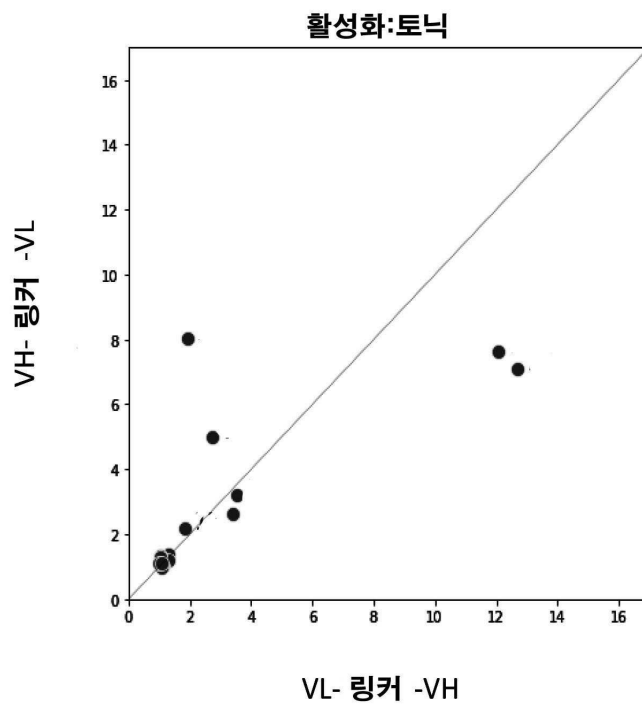
도면26a



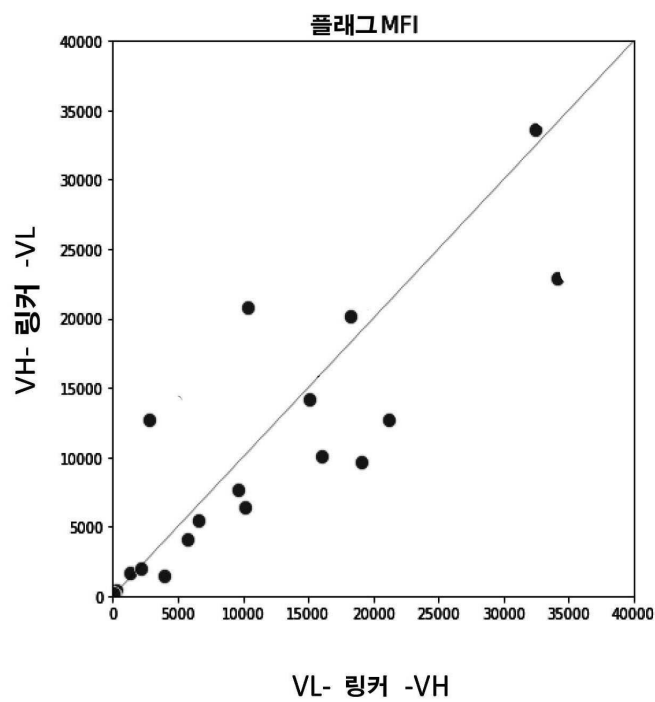
도면26b



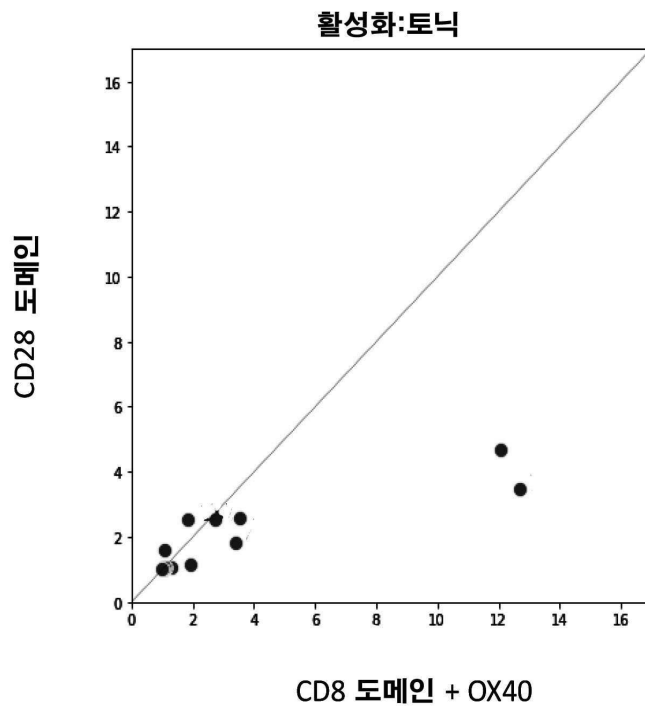
도면26c



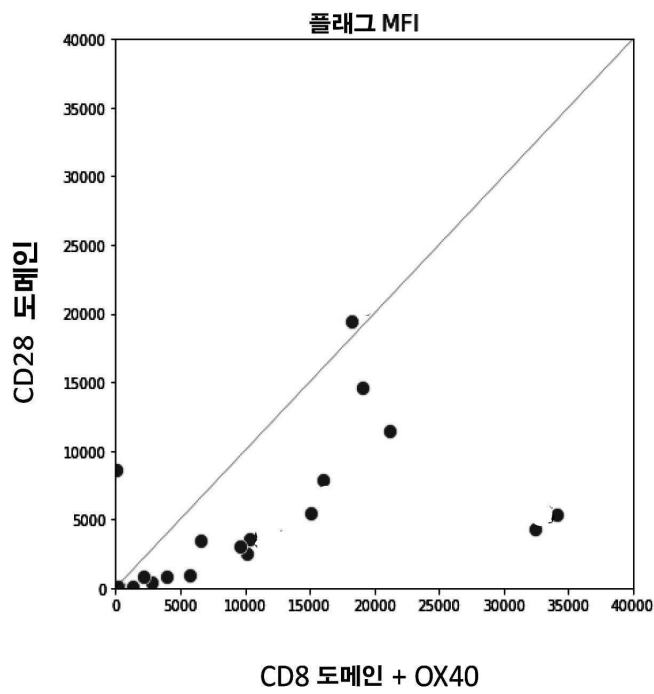
도면26d



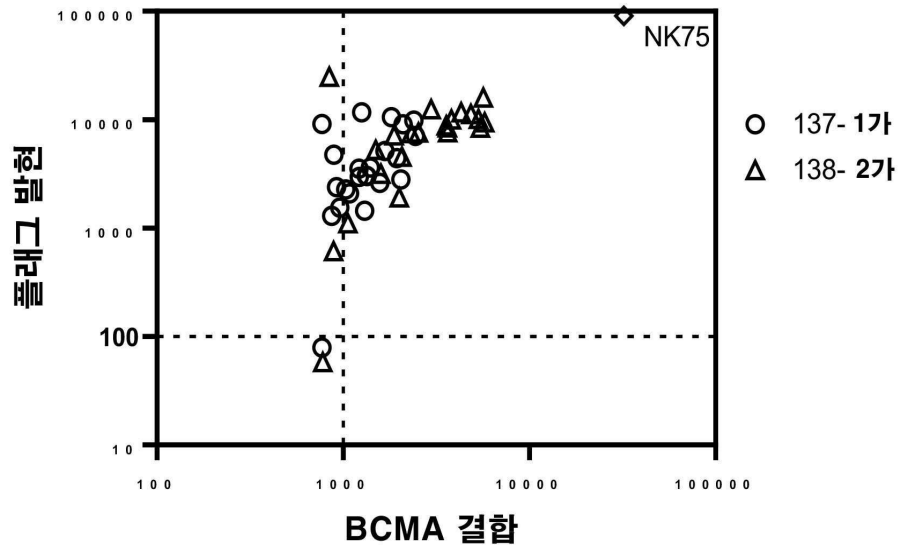
도면26e



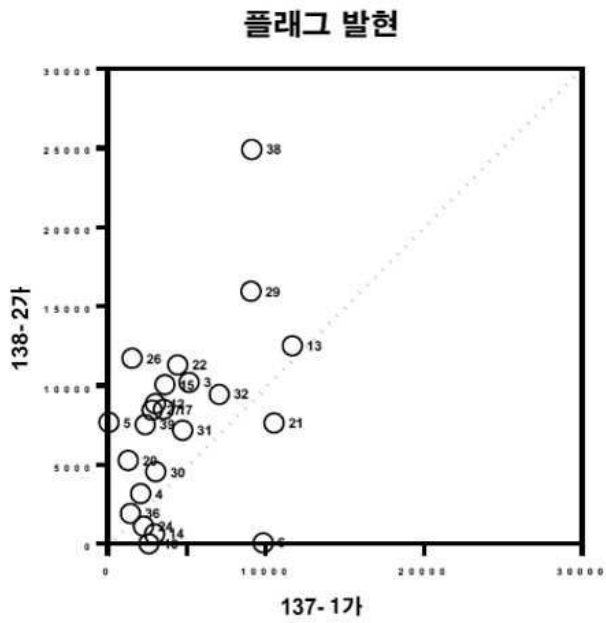
도면26f



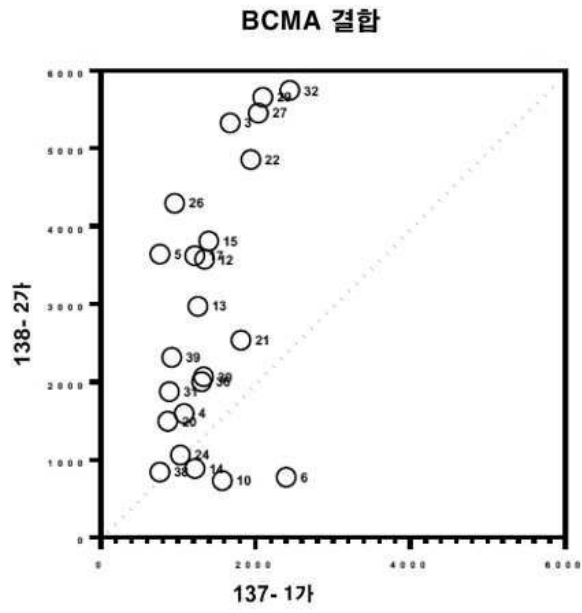
도면27



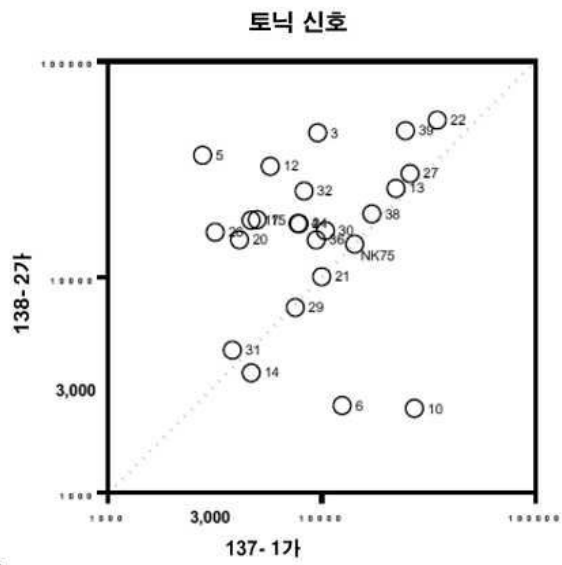
도면28a



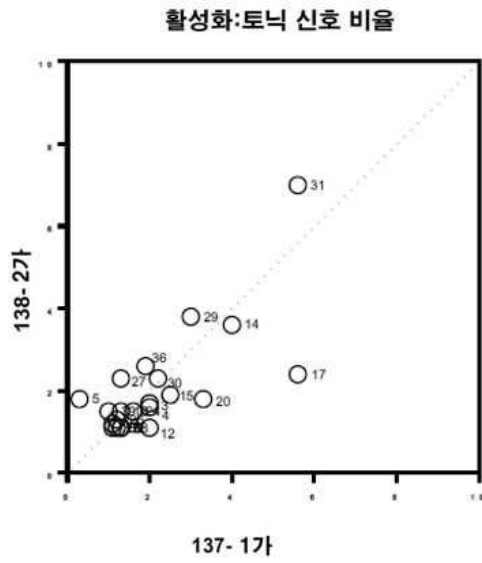
도면28b



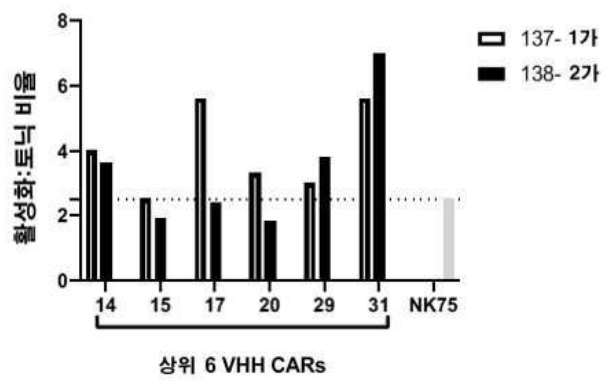
도면29a



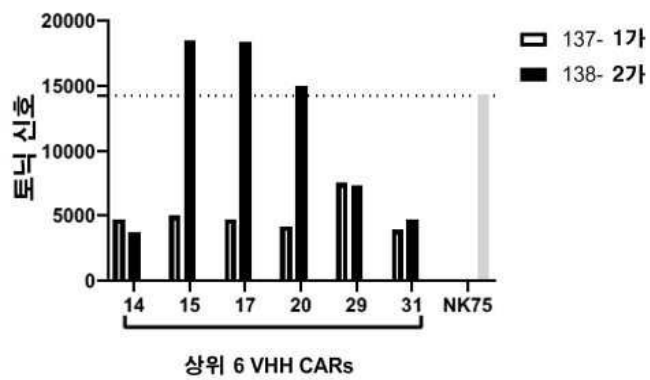
도면29b



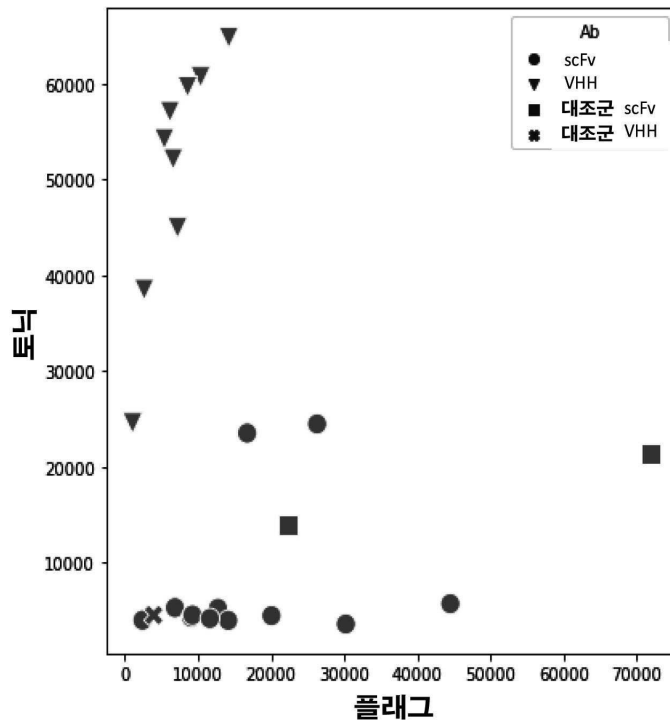
도면29c



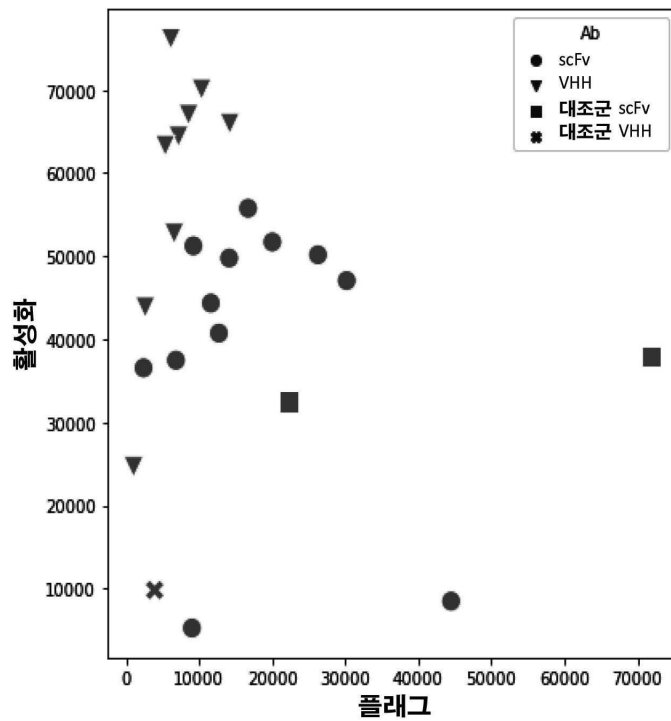
도면29d



도면30a



도면30b



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.