(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0099161
(43) 공개일자 2024년06월28일

(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 14/705 (2006.01) *C07K 14/725* (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61K 39/4613 (2023.05)
(21) 출원번호 10-2024-7011576
(22) 출원일자(국제) 2022년10월19일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월05일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2022/040573
(87) 국제공개번호 WO 2023/068382
국제공개일자 2023년04월27일
(30) 우선권주장
63/257,822 2021년10월20일 미국(US)
63/257,846 2021년10월20일 미국(US)

(71) 출원인
다케다 야쿠힌 고교 가부시키가이샤
일본 오사까시 쥬오구 도쇼마찌 4-1-1
(72) 발명자
컬리 마이클
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오
에릴마즈 에르탄
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인코리아나

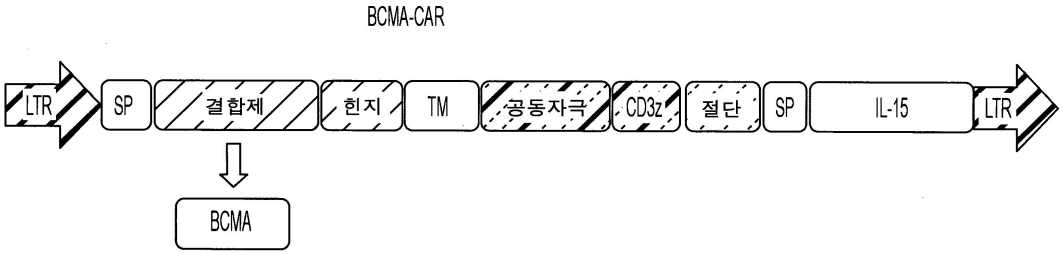
전체 청구항 수 : 총 81 항

(54) 발명의 명칭 **BCMA를 표적화하는 조성물 및 이의 사용 방법**

(57) 요 약

본 발명은 BCMA 항원 결합 분자를 포함하는 BCMA 결합제(예를 들어, 항체) 및 키메라 항원 수용체(CAR) 작제물에 관한 것이다. BCMA 결합제는 BCMA에 특이적으로 결합한다. 본 발명의 BCMA CAR은 힌지 영역(예를 들어, CD28 힌지), 막횡단 도메인, 및 하나 이상의 세포내 NK 세포 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. BCMA CAR을 발현하는 NK 세포는 암 세포를 사멸시키는 데 있어서 증가된 효능을 갖는다. 제공된 본원은 또한 BCMA 결합제 및 BCMA CAR의 치료적 용도를 포함한다.

대 표 도



(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)
C07K 14/70521 (2013.01)
C12N 5/0646 (2023.05)
A61K 2239/39 (2023.05)
A61K 2239/46 (2023.05)

(72) 발명자
제닝스 숀
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오
타랄리코 리앤
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오
힉맨 테일러
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오
웽 크리스티나 셰우 펀
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오
프레이저 캐슬린
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오
왕 하이칭
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오
피에르시질리 알렉산드라
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 랜즈다운 스트리트 40 밀레니엄 파마슈티컬스 인코포레이티드 씨/오

명 세 서

청구범위

청구항 1

B-세포 성숙 항원(BCMA) 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서,

3개의 중쇄 상보성 영역(HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, HCDR1은 SYAIH(서열번호: 2)를 포함하고, HCDR2는 VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)를 포함하고, HCDR3은 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)를 포함하는,

B-세포 성숙 항원(BCMA) 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 0 초과 및 150 nM 미만의 K_D로 BCMA에 결합하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 1 pM 초과 및 10 nM 미만의 K_D로 BCMA에 결합하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 0.05 내지 0.5 μg/ml의 EC50으로 인간 세포에 제시된 BCMA에 결합하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 3개의 경쇄 가변 영역(LCDR)을 포함하며, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 3개의 경쇄 가변 영역(LCDR)을 포함하며, LCDR1은 RASQGISSYLA(서열번호: 11)를 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고 LCDR3은 QQLNSYPWT(서열번호: 14)를 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 3개의 경쇄 가변 영역(LCDR)을 포함하며, LCDR1은 RASQGINNYLA(서열번호: 6)를 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고 LCDR3은 QQLKSYPFT(서열번호: 8)를 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 3개의 경쇄 가변 영역(LCDR)을 포함하며, LCDR1은 RASQGISSYLA(서열번호: 11)를 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고 LCDR3은 QQLNSYPFT(서열번호: 12)를 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 IgG 불변 영역을 포함하는 항체인, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 10

B-세포 성숙 항원(BCMA) 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 3개의 LCDR을 포함하며,

LCDR1은 RASQGIX$_1$X$_2$YLA(서열번호: 79)를 포함하고/하거나,

LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고/하거나,

LCDR3은 QQLX$_3$SYPX$_4$T(서열번호: 80)를 포함하고;

X$_1$은 S 또는 N으로부터 선택되고/되거나;

X$_2$는 S 또는 N으로부터 선택되고/되거나;

X$_3$은 N 또는 K로부터 선택되고/되거나;

X$_4$는 F 또는 W로부터 선택되는,

B-세포 성숙 항원(BCMA) 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호: 9를 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는, BCMA 항체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호: 9에 대해 적어도 95% 동일한 VH 서열을 포함하는, BCMA 항체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호: 1을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH)을 포함하는, BCMA 항체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호: 1에 대해 적어도 95% 동일한 VH 서열을 포함하는, BCMA 항체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호: 5, 10, 또는 13을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는, BCMA 항체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호: 5, 10, 또는 13에 대해 적어도 90% 동일한 VL 서열을 포함하는, BCMA 항체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 IgA 항체, IgG 항체, IgE 항체, IgM 항체, 이중- 또는 다중-특이적 항체, Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')2 단편, Fd' 단편, Fd 단편, 단리된 CDR 또는 이들의 세트; 단일-사슬 가변 단편(scFv), 폴리펩티드-Fc 융합, 단일 도메인 항체, 카멜로이드 항체; 차폐 항체, 소형 모듈형 면역의약품(Small Modular ImmunoPharmaceutical; "SMIPsTM"), 단일 사슬, 탠덤 디아바디, VHH, 안티칼린, 나노바디, 미니바디, BiTE, 안키린 반복 단백질, DARPIN, 아비머, DART, TCR-유사 항체, 애드넥틴, 아필린, 트랜스-바디; 아피바디, 트리머X, 마이크로단백질, 파이노머, 센티린; 및 KALBITOR로 이루어진 군으로부터 선택되는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 단일-사슬 가변 단편(scFv)인, BCMA

항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 19

제18항에 있어서, BCMA-결합 scFv는 링커 서열을 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 20

제19항에 있어서, BCMA-결합 scFv는 서열번호: 15-18로부터 선택되는 링커를 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 21

제18항에 있어서, BCMA-결합 scFv는 신호 펩티드를 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 22

제18항에 있어서, BCMA-결합 scFv는 서열번호: 85-87로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 23

제22항에 있어서, BCMA-결합 scFv는 서열번호: 85, 86 또는 87에 대해 적어도 80% 동일한 서열을 포함하는, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 24

항체 또는 항원-결합 단편과 경쟁하는 BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서,

3개의 중쇄 상보성 영역(HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, HCDR1은 SYAIH(서열번호: 2)를 포함하고, HCDR2는 VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)를 포함하고, HCDR3은 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)를 포함하는,

BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 25

항체 또는 항원-결합 단편과 경쟁하는 BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 3개의 LCDR을 포함하며,

LCDR1은 RASQGIX$_1$X$_2$YLA(서열번호: 79)를 포함하고/하거나,

LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고/하거나,

LCDR3은 QQLX$_3$SYPX$_4$T(서열번호: 80)를 포함하고;

X$_1$은 S 또는 N으로부터 선택되고/되거나;

X$_2$는 S 또는 N으로부터 선택되고/되거나;

X$_3$은 N 또는 K로부터 선택되고/되거나;

X$_4$는 F 또는 W로부터 선택되는,

BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 26

암을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제25항 중 어느 한 항의 BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 암은 면역 세포 악성종양, 예를 들어, 백혈병, 림프종, 또는 골수종인, 방법.

청구항 28

BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물로서, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

3개의 중쇄 상보성 영역(HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, HCDR1은 SYAIH(서열번호: 2)를 포함하고, HCDR2는 VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)를 포함하고, HCDR3은 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)를 포함하는,

약학적 조성물.

청구항 29

BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물로서, BCMA 항체 또는 이의 단편은

AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하는 경쇄 가변 상보성 결정 영역(LCDR) 2를 포함하는,

약학적 조성물.

청구항 30

B-세포 성숙 항원(BCMA)에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자, CD28 힌지 영역, 막횡단 도메인, 및 하나 이상의 세포내 세포 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 31

제30항에 있어서, BCMA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자는

(a) 서열번호: 2를 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 상보성 결정 영역(CDR) 1,

(b) 서열번호: 3을 포함하는 VH CDR2, 및

(c) 서열번호: 4를 포함하는 VH CDR3

을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 32

제31항에 있어서, BCMA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자는

(a) 서열번호: 6을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 상보성 결정 영역(CDR) 1,

(b) 서열번호: 7을 포함하는 VL CDR2, 및

(c) 서열번호: 8을 포함하는 VL CDR3

을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 33

제32항에 있어서, BCMA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자는

(a) 서열번호: 11을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 상보성 결정 영역(CDR) 1,

(b) 서열번호: 7을 포함하는 VL CDR2, 및

(c) 서열번호: 12를 포함하는 VL CDR3

을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 34

제31항에 있어서, BCMA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자는

(a) 서열번호: 11을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) 상보성 결정 영역(CDR) 1,

(b) 서열번호: 7을 포함하는 VL CDR2, 및

(c) 서열번호: 14를 포함하는 VL CDR3

을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 35

제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자는 서열번호: 1 또는 9에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 36

제30항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, BCMA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자는 서열번호: 5, 10 또는 13 중 어느 하나에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 37

제30항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 단편은 Fab 단편, F(ab')2 단편, Fv 단편, 또는 단일 사슬 가변 단편(scFv)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 38

제30항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 분자는 scFv를 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 39

제30항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, VH 및 VL은 링커에 의해 연결되는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 40

제39항에 있어서, 링커는 약 50개 아미노산 내지 약 2개 아미노산을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 41

제39항에 있어서, 링커는 서열번호: 15-18에 대해 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 42

제30항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 분자는 약 1×10^{-6} M 미만, 약 1×10^{-7} M 미만, 약 1×10^{-8} M 미만, 또는 약 1×10^{-9} M 미만의 K_D로 BCMA에 결합하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 43

제30항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 막횡단 도메인은 CD28, CD3ζ, CD3 엡실론, CD3 감마, CD3 델타, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, ICOS/CD278, GITR/CD357, NKG2D, 또는 이들의 임의의 조합의 막횡단 도메인인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 44

제43항에 있어서, 막횡단 도메인은 CD28 막횡단 도메인인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 45

제30항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 힌지 영역은 서열번호: 56에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%

동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 46

제30항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 공동자극 영역을 추가로 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 47

제46항에 있어서 , 공동자극 영역은 CD28, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, 프로그래밍된 사멸-1(PD-1), 유도성 T 세포 공동자극자(ICOS), CD8 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD247, CD276(B7-H3), LIGHT(종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 구성원 14; TNFSF1.4), NKG2C, Ig 알파(CD79a), Fc 감마 수용체, MHC 클래스 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린-유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, 11.2베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, ITGAE, CD103, ITGAL, LFA-1, ITGAM, ITGAX, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(촉각), CEACAM1, CRT AM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CDIO(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD 19a, CD83과 특이적으로 결합하는 리간드, 또는 이들의 임의의 조합의 신호전달 영역인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 48

제30항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 공동자극 영역은 서열번호: 28에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 49

제30항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 활성화 도메인을 추가로 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 50

제49항에 있어서, 활성화 도메인은 CD3ζ 도메인인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 51

제49항 또는 제50항에 있어서, 활성화 도메인은 서열번호: 30에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 7, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 52

제30항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 자살 유전자를 추가로 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 53

제52항에 있어서, 자살 유전자는 리툭시맙, iCaspase 9, 헤르페스 심플렉스 바이러스-티미딘 키나아제(HSV-tk) 및 간사이클로비르, 아사이클로비르, 또는 FIAU; 산화환원효소 및 사이클로헥시미드; 사이토신 데아미나아제 및 5-플루오로사이토신; 티미딘 키나아제 티미딜레이트 키나아제(Tdk::Tmk)로부터 선택되는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 54

제52항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 자살 유전자는 iCaspase9인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 55

제30항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 사이토카인을 추가로 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 56

제55항에 있어서, 사이토카인은 IL-7, IL-12, IL-15, IL-18, 또는 IL-21로부터 선택되는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 57

제55항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 사이토카인은 IL-15인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 58

제57항에 있어서, IL-15의 아미노산 서열은 서열번호: 23을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 59

제30항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, CAR은 서열번호: 19-21에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 7, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 60

제59항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

청구항 61

제60항에 있어서, 레트로바이러스 벡터, DNA 벡터, 플라스미드, RNA 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노바이러스 연관 벡터, 렌티바이러스 벡터, 또는 이들의 임의의 조합인, 벡터.

청구항 62

제30항 내지 제59항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는 CAR.

청구항 63

제30항 내지 제59항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제60항 내지 제61항 중 어느 한 항의 벡터, 제62항의 CAR, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 세포.

청구항 64

제63항에 있어서, 세포는 면역 세포인, 세포.

청구항 65

제63항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 세포는 NK-세포, T-세포 또는 종양-침윤 림프구(TIL), iNKT 세포, B 세포, 대식세포, 수지상 세포, 또는 이들의 혼합물인, 세포.

청구항 66

제30항 내지 제59항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제60항 내지 제61항 중 어느 한 항의 벡터, 제62항의 CAR, 또는 제63항 내지 제65항 중 어느 한 항의 세포를 포함하는 조성물.

청구항 67

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항의 세포를 포함하는 면역 세포의 집단.

청구항 68

개체에서 암을 치료하는 방법으로서, 치료적 유효량의 제66항의 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 유효량의 추가 요법을 개체에게 제공하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 70

제68항에 있어서, 추가 요법은 수술, 방사선, 유전자 요법, 면역요법, 또는 호르몬 요법을 포함하는, 방법.

청구항 71

제68항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리뉴클레오티드를 보유하는 세포 또는 벡터를 보유하는 세포는 주입, 주사, 정맥내로, 동맥내로, 복강내로, 기관내로, 종양내로, 근육내로, 내시경적으로, 병변내로, 두개내로, 경피로, 피하로, 국소적으로, 관류에 의해, 종양 미세환경에서, 또는 이들의 조합에 의해 개체에게 투여되는, 방법.

청구항 72

제68항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 다발성 골수종, 림프종, 및/또는 백혈병으로부터 선택되는, 방법.

청구항 73

CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 NK-세포로서,

(a) 하기를 포함하는 BCMA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자:

서열번호: 1 또는 9에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 중쇄 가변 영역(VH), 및

서열번호: 5, 10 또는 13 중 어느 하나에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 경쇄 가변 영역(VL),

(b) CD28 힌지 영역,

(c) 막횡단 도메인, 및

(d) 하나 이상의 세포내 세포 신호전달 도메인

을 포함하는, NK-세포.

청구항 74

BCMA 결합 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드로서,

(a) CD28 힌지,

(b) 막횡단 도메인,

(c) 공동자극 도메인, 및

(d) IL-15 사이토카인

을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 75

제74항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 NK-세포.

청구항 76

키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 갖는 면역 세포로서, CAR은

(a) 항원 결합 도메인,

(b) CD28 힌지, 및

(c) CD28 막횡단 도메인

을 포함하는, 면역 세포.

청구항 77

제76항에 있어서, 세포는 종양 세포 상에서 발현된 BCMA에 결합하는 CAR을 포함하는, 면역 세포.

청구항 78

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 따른 항-BCMA 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 79

제78항에 있어서, 적어도 하나의 화학적 변형을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 80

제78항에 있어서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 55-56, 58-59, 63, 67, 71, 및 76-78로 이루어진 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 81

제62항에 따른 BCMA 결합 CAR을 발현하는 NK 세포.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2021년 10월 20일에 출원된 미국 가출원 번호 63/257,822; 및 2021년 10월 20일에 출원된 미국 가출원 번호 63/257,846에 우선권 및 이익을 주장하며, 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] **서열 목록에 대한 상호 참조**

[0004] 본 출원은 전자적으로 출원된 XML 형식의 서열 목록으로 출원되고 있다. MIL-019WO1_SL.XML이라는 제목의 서열 목록 파일은 2022년 10월 12일에 생성되었으며, 이의 크기는 102,326 바이트이고, 서열 목록의 전자 형식의 정보는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0005] **배경**

[0006] 비-글리코실화 유형 I 막횡단 단백질인 B-세포 성숙 항원(또한 BCMA, CD269, TNFRSF17로서 공지됨)은 분화된 혈장 세포에서 우선적으로 발현되는 종양 괴사 수용체 슈퍼패밀리의 구성원이다. BCMA는 다양한 암, 특히 다른 암 중에서도 림프종, 다발성 골수종을 포함하는 다양한 B-세포 관련 암에서 과발현하는 것으로 나타났다. BCMA를 표적화하는 것은 림프종, 다발성 골수종 및 기타 암을 포함하는 BCMA 양성 암을 치료하기 위한 유망한 접근법으로서 떠올랐다. BCMA를 표적화하기 위한 가장 일반적인 치료 양식은 BCMA 특이적 항체(예를 들어, BiTE®(이중특이적 T-세포 관여자) 면역-종양학 요법을 포함하는 이중특이적 항체 작제물), 항체-약물 접합체(ADC), 및 키메라 항원 수용체(CAR)-변형된 면역 세포 요법을 포함한다.

[0007] 키메라 항원 수용체(CAR) 기술은 일반적인 면역억제 종양 미세환경을 완화시킬 뿐만 아니라 면역 이펙터 세포를 세포 표면 종양 특이적 항원으로 재지향시키기 위해 설계되었다. CAR은 막횡단 수용체로서 면역 이펙터 세포 상에서의 발현을 위해 인공적으로 생성되어 종양 세포 표면 항원을 식별하였다.

[0008] 자연 살해(NK) 세포는 종양 세포에 대해 효과적인 세포독성을 매개하고, T-세포와 달리 동종이계 환경에서 이식편-대-숙주 질환(GVHD)을 유발할 가능성이 결여되어 있기 때문에 CAR 조작에 대한 매력적인 경쟁자이다. 따라서, NK 세포는 즉각적인 임상적 사용을 위한 기성품 세포 요법 생성물로서 이용가능하게 될 수 있다. CAR-NK 세포는 또한 이들의 천연 수용체를 통해 종양 세포를 인식하고 표적화하는 이들의 내재적 능력을 보유하므로, 원칙적으로 CAR 표적 항원의 하향조절을 통해 질환 탈출 가능성이 CAR-T 세포에서 관찰되는 것보다 적다.

[0009] 본 개시내용은 최적화된 CAR 구성을 통해 암 세포 상의 BCMA 항원을 표적화할 수 있는 CAR-NK 세포를 표적화하는 신규한 항-BCMA 항체 및 B-세포 성숙 항원(BCMA)을 제공한다.

발명의 내용

[0010] **요약**

[0011] 본 발명은 신규한 인간 항-BCMA 항체, 이의 항원 결합 단편, 및 무엇보다도 새로운 BCMA 결합제를 포함하는 신규한 BCMA CAR 작제물, 및 BCMA-CAR 발현 NK 세포를 제공한다. 또한, 본 발명은 BCMA 이상과 연관된 암의 치료를 위한 새로운 BCMA 결합제, BCMA CAR 및/또는 BCMA-CAR 발현 NK 세포의 사용 방법을 포함한다. 본 발명은 항체 및 이의 항원 결합 단편, 및 인간 항-BCMA 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 및 BCMA에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 CAR-함유 CD28 힌지 도메인을 포함하는 BCMA를 표적화하는 CAR-NK 세포가 상이한 (예를 들어, IgG1) 힌지 도메인을 갖는 것을 제외하고는 동등한 CAR 작제물을 발현하는 CAR-NK 세포와 비교하여 마우스 다발성 골수종 모델에서 종양 억제에 있어서 예상외로 더 효과적이었다는 관찰에 기반한다. 따라서, 본 발명은 NK 세포에서의 신호전달을 위한 개선된 BCMA-CAR 작제물을 제공하여, BCMA-양성 종양에 대해 더욱 효과적인 면역요법을 초래한다.

[0012] 본 발명의 일 양태에서, 제공된 본원은 인간 항-BCMA 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함하고; 이러한 인간 항-BCMA 항체 및 이의 단편은 높은 특이도 및 친화도로 인간 BCMA에 결합한다.

[0013] 일부 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3개의 중쇄 상보성 영역(HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 HCDR1은 SYAIH(서열번호: 2)를 포함하고, HCDR2는 VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)를 포함하고, HCDR3은 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)를 포함한다.

[0014] 일부 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 0 초과 및 150 nM 미만의 K_D로 BCMA에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 1 pM 초과 및 10 nM 미만의 K_D로 BCMA에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 0.05 내지 0.5 μg/ml의 EC50으로 인간 세포에 제시된 BCMA에 결합한다.

[0015] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3개의 경쇄 가변 영역(LCDR)을 포함하며, 여기서 LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함한다.

[0016] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3개의 경쇄 가변 영역(LCDR)을 포함하며, 여기서 LCDR1은 RASQGISSYLA(서열번호: 11)를 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고 LCDR3은 QQLNSYPWT(서열번호: 14)를 포함한다.

[0017] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3개의 경쇄 가변 영역(LCDR)을 포함하며, 여기서 LCDR1은 RASQGINNYLA(서열번호: 6)를 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고 LCDR3은 QQLKSYPFT(서열번호: 8)를 포함한다.

[0018] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 3개의 경쇄 가변 영역(LCDR)을 포함하고, LCDR1은 RASQGISSYLA(서열번호: 11)를 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고 LCDR3은 QQLNSYPFT(서열번호: 12)를 포함한다.

[0019] 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 IgG 불변 영역을 포함하는 항체이다.

[0020] 일 구현예에서, 본 발명은 3개의 LCDR을 포함하는 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포괄하며, 여기서

[0021] LCDR1은 $RASQGIX_1X_2YLA$(서열번호: 79)를 포함하고/하거나,

[0022] LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고/하거나,

[0023] LCDR3은 $QQLX_3SYPX_4T$(서열번호: 80)를 포함하고;

[0024] X_1은 S 또는 N으로부터 선택되고/되거나;

[0025] X_2는 S 또는 N으로부터 선택되고/되거나;

[0026] X_3은 N 또는 K로부터 선택되고/되거나;

[0027] X_4는 F 또는 W로부터 선택된다.

[0028] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 1을 포함하는 가변 중쇄 영역(VH)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 1에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 VH를 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 9를 포함하는 VH를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 9에 대해 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 VH를 포함한다.

[0029] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 5, 10 또는 13을 포함하는 가변 경쇄 영역(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 5, 10 또는 13에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 VL을 포함한다.

[0030] 일부 구현예에서, BCMA 항원 결합 단편은 IgA 항체, IgG 항체, IgE 항체, IgM 항체, 이중- 또는 다중-특이적 항체, Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')2 단편, Fd' 단편, Fd 단편, 단리된 CDR 또는 이들의 세트; 단일-사슬 가변 단편(scFv), 폴리펩티드-Fc 융합, 단일 도메인 항체, 카멜로이드 항체; 차폐 항체, 소형 모듈형 면역의약품(Small Modular ImmunoPharmaceutical; "SMIPsTM"), 단일 사슬, 탠덤 디아바디, VHH, 안티칼린, 나노바디, 미니바디, BiTE, 안키린 반복 단백질, DARPIN, 아비머, DART, TCR-유사 항체, 애드넥틴, 아필린, 트랜스-바디; 아피바디, 트리머X, 마이크로단백질, 파이노머, 센티린; 및 KALBITOR로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0031] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단일-사슬 가변 단편(scFv)을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 항원 결합 단편은 링커 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호: 15-18로부터 선택되는 링커를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 항원 결합 단편은 신호 펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 85-87의 scFv를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 85-87에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 scFv를 포함한다.

[0032] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 포괄한다. 비-제한적인 예로서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편은

[0033] 3개의 중쇄 상보성 영역(HCDR)을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 HCDR1은 SYAIH(서열번호: 2)를 포함하고, HCDR2는 VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)를 포함하고, HCDR3은 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)를 포함한다. 다른 예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하는 경쇄 가변 상보성 결정 영역(LCDR) 2를 포함할 수 있다.

[0034] 비-제한적인 예로서, 본 발명의 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SYAIH(서열번호: 2)를 포함하는 HCDR1, VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)를 포함하는 HCDR2, 및 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)를 포함하는 HCDR3을 포함하는 3개의 HCDR, 및 RASQGINNYLA(서열번호: 6)를 포함하는 LCDR1, AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하는 LCDR2 및 QQLKSYPFT(서열번호: 8)를 포함하는 LCDR3을 포함하는 3개의 LCDR을 포함한다.

[0035] 일 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SYAIH(서열번호: 2)를 포함하는 HCDR1, VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)를 포함하는 HCDR2, 및 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)를 포함하는 HCDR3을 포함하는 3개의 HCDR, 및 RASQGISSYLA(서열번호: 11)를 포함하는 LCDR1, AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하는 LCDR2 및 QQLNSYPWT(서열번호: 14)를 포함하는 LCDR3을 포함하는 3개의 LCDR을 포함한다.

[0036] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SYAIH(서열번호: 2)를 포함하는 HCDR1, VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)를 포함하는 HCDR2, 및 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)를 포함하는 HCDR3을 포함하는 3개의 HCDR, 및 RASQGISSYLA(서열번호: 11)를 포함하는 LCDR1, AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하는 LCDR2 및 QQLNSYPFT(서열번호: 12)를 포함하는 LCDR3을 포함하는 3개의 LCDR을 포함한다.

[0037] 본 발명의 또 다른 양태에서, 세포외 BCMA 결합 도메인, CD28 힌지 영역, 막횡단 도메인, 및 하나 이상의 세포내 세포 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공하며, 여기서 BCMA 결합 도메인은 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 따라서, 본원에 기재된 바와 같은 BCMA 결합 CAR은 BCMA 항원을 특이적으로 인식하고 이에 결합한다.

[0038] 일부 구현예에서, 본 발명은 BCMA 항원 결합 도메인, CD28 힌지 영역, 막횡단 도메인, 및 하나 이상의 세포내 세포 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 적어도 하나의 변형을 포함할 수 있다.

[0039] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 (a) 서열번호: 2를 포함하는 중쇄 가변 영역 상보성 결정 영역(HCDR) 1, (b) 서열번호: 3을 포함하는 HCDR2, 및 (c) 서열번호: 4를 포함하는 HCDR3을 포함하는 BCMA 항원 결합 도메인을 암호화하는 서열을 포함한다.

[0040] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 (a) 서열번호: 6을 포함하는 경쇄 가변 영역 상보성 결정 영역(LCDR) 1, (b) 서열번호: 7을 포함하는 LCDR2, 및 (c) 서열번호: 8을 포함하는 LCDR3을 포함하는 BCMA 항원 결합 도메인을 암호화하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 (a) 서열번호: 11을 포함하는 LCDR1, (b) 서열번호: 7을 포함하는 LCDR2 및 (c) 서열번호: 12를 포함하는 LCDR3을 포함하는 BCMA 항원 결합 도메인을 암호화하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 (a) 서열번호: 11을 포함하는 LCDR1, (b) 서열번호: 7을 포함하는 LCDR2, 및 (c) 서열번호: 14를 포함하는 LCDR3을 포함하는 BCMA 항원 결합 도메인을 암호화하는 서열을 포함한다.

[0041] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 1 또는 9에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 BCMA 항원 결합 도메인을 암호화한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 5, 10 또는 13 중 어느 하나에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 BCMA 항원 결합 도메인을 암호화한다.

[0042] 일부 구현예에서, 항원 결합 단편은 Fab 단편, F(ab')2 단편, Fv 단편, 또는 단일 사슬 가변 단편(scFv)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 scFv를 포함한다. 일부 구현예에서, scFv의 VH 및 VL은 링커에 의해 연결된다. 일부 구현예에서, 링커는 약 50개의 아미노산 내지 약 2개의 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 서열번호: 15-18에 대해 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0043] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 약 1×10^{-6} M 미만, 약 1×10^{-7} M 미만, 약 1×10^{-8} M 미만, 또는 약 1×10^{-9} M 미만의 K_D로 BCMA에 결합하는 BCMA 결합 CAR을 암호화한다.

[0044] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 막횡단 도메인을 암호화하는 서열을 포함한다. 본 발명의 BCMA 결합 CAR의 막횡단 도메인은 CD28, CD3ζ, CD3 엡실론, CD3 감마, CD3 델타, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, ICOS/CD278, GITR/CD357, NKG2D, 또는 이들의 임의의 조합의 막횡단 도메인이다. 일부 구현예에서, 막횡단 도메인은 CD28 막횡단 도메인이다.

[0045] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 힌지 영역을 암호화하는 서열을 포함한다. 본 발명의 BCMA 결합 CAR의 힌지 영역은 CD28 힌지 도메인이다. 비-제한적인 예로서, 힌지 영역은 서열번호: 36에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0046] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 공동자극 영역을 암호화하는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 공동자극 영역은 CD28, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, 프로그래밍된 사멸-1(PD-1), 유도성 T 세포 공동자극자(ICOS), CD8 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD247, CD276(B7-H3), LIGHT(종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 구성원 14; TNFSF1.4), NKG2C, Ig 알파(CD79a), Fc 감마 수용체, MHC 클래스 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린-유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, 11.2베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, ITGAE, CD103, ITGAL, LFA-1, ITGAM, ITGAX, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(촉각), CEACAM1, CRT AM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CDIO(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD 19a, CD83과 특이적으로 결합하는 리간드, 또는 이들의 임의의 조합의 신호전달 영역이다. 일부 구현예에서, 공동자극 영역은 서열번호: 28에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%,

적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0047] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 활성화 도메인을 암호화하는 서열을 포함한다. 비-제한적인 예로서, 활성화 도메인은 CD3ζ 도메인이다. 일부 구현예에서, 활성화 도메인은 서열번호: 30에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 7, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0048] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 자살 유전자를 암호화하는 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 리툭시맙, iCaspase 9, 헤르페스 심플렉스 바이러스-티미딘 키나아제(HSV-tk) 및 간사이클로비르, 아사이클로비르, 또는 FIAU; 산화환원효소 및 사이클로헥시미드; 사이토신 데아미나아제 및 5-플루오로사이토신; 티미딘 키나아제 티미딜레이트 키나아제(Tdk::Tmk)로부터 선택되는 자살 유전자를 포함한다. 일부 구현예에서, 자살 유전자는 iCaspase9이다.

[0049] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 사이토카인을 암호화하는 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-7, IL-12, IL-15, IL-18, 또는 IL-21로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-15이다. 일부 구현예에서, IL-15의 아미노산 서열은 서열번호: 23을 포함한다.

[0050] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 BCMA 결합 CAR은 서열번호: 19-21에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0051] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 임의의 이전 구현예의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다.

[0052] 일부 구현예에서, 벡터는 레트로바이러스 벡터, DNA 벡터, 플라스미드, RNA 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노바이러스 연관 벡터, 렌티바이러스 벡터, 또는 이들의 임의의 조합이다.

[0053] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 BCMA 결합 CAR을 발현하는 세포를 제공한다. 일부 구현예에서, CAR 발현 세포는 본원에 기재된 바와 같은 BCMA 결합 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 다른 구현예에서, CAR 발현 세포는 본원에 기재된 바와 같은 벡터를 포함한다.

[0054] 일부 구현예에서, 세포는 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 NK-세포, T-세포 또는 종양-침윤 림프구(TIL), iNKT 세포, B 세포, 대식세포, 수지상 세포, 또는 이들의 혼합물이다. 일부 구현예에서, 본 개시내용은 상기 구현예 중 어느 하나의 면역 세포를 포함하는 면역 세포의 집단에 관한 것이다.

[0055] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 임의의 상기 구현예의 폴리뉴클레오티드, 임의의 상기 구현예의 벡터, 임의의 상기 구현예의 CAR, 또는 임의의 상기 구현예의 세포를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0056] 비-제한적인 예로서, 본 개시내용은 (a) 서열번호: 1 또는 9에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 중쇄 가변 영역(VH), 및 서열번호: 5, 10 또는 13 중 어느 하나에 대해 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 BCMA에 특이적으로 결합하는 항원 결합 분자, (b) CD28 힌지 영역, (c) 막횡단 도메인, 및 (d) 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 NK-세포에 관한 것이다.

[0057] 일부 양태에서, 본 개시내용은 (a) CD28 힌지, (b) 막횡단 도메인, (c) 공동자극 도메인, 및 (d) IL-15 사이토카인을 포함하는 BCMA 결합 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포괄한다.

[0058] 일 양태에서, 본 개시내용은 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 갖는 면역 세포를 포괄하며, 여기서 CAR은 (a) 항원 결합 도메인; (b) CD28 힌지; 및 (c) CD28 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역 세포는 종양 세포 상에서 발현된 BCMA에 결합하는 CAR을 포함한다.

[0059] 본 발명의 또 다른 양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체, 이의 항원-결합 단편, BCMA 결합 CAR, 벡터, 세포 및 조성물의 사용 방법을 제공한다.

[0060] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 항-BCMA 항체, 이의 항원 결합 단편, BCMA 결합 CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터 및/또는 BCMA 결합 CAR을 발현하는 세포를 사용하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며; 상기 방법은 치료적 유효량의 본 개시내용에서 논의된 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 및 조성물 중 어느 하나를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0061] 일부 구현예에서, 본 방법은 유효량의 추가 요법을 개체에게 제공하는 단계를 추가로 포함한다.

[0062] 일부 구현예에서, 추가 요법은 수술, 방사선, 유전자 요법, 면역요법, 또는 호르몬 요법을 포함한다.

[0063] 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오티드를 보유하는 세포 또는 벡터를 보유하는 세포는 주입, 주사, 정맥내로, 동맥내로, 복강내로, 기관내로, 종양내로, 근육내로, 내시경적으로, 병변내로, 두개내로, 경피로, 피하로, 국소적으로, 관류에 의해, 종양 미세환경에서, 또는 이들의 조합에 의해 개체에게 투여된다.

[0064] 일부 구현예에서, 암은 면역 세포 악성 종양, 예를 들어, 백혈병, 림프종, 또는 골수종이다. 일부 구현예에서, 암은 다발성 골수종, 림프종 및/또는 백혈병으로부터 선택된다.

도면의 간단한 설명

[0065] 이들 도면 및 다른 도면에 도시된 다양한 구성요소는 단지 설명을 위한 것이며 명시적으로 언급되지 않는 한 청구범위로 해석되어서는 안 된다는 점에 유의해야 한다.

도 1은 IL-15 사이토카인(예를 들어, 가용성 IL-15) 및 CD28로부터의 힌지 영역을 갖는 예시적인 BCMA-CAR의 작제물의 대표도이다.

도 2는 비-형질도입된(NT) 세포와 비교하여, IgG 힌지 및 CD28 힌지를 갖는 BCMA CAR로 형질도입된 NK 세포의 시험관내 세포독성 검정의 그래프이다.

도 3은 IgG 힌지 또는 CD28 힌지 도메인을 갖는 BCMA-CAR을 발현하는 공동-투약된 NK 세포에서의 종양 진행의 회화적 도해이다.

도 4는 CD28 힌지 도메인을 갖는 BCMA-CAR(1M 또는 3M)을 발현하는 상이한 공동-투약된 NK 세포에 의한 종양 진행의 회화적 도해이다.

도 5는 CD28 힌지 도메인을 갖는 BCMA-CAR(1M)을 발현하는 상이한 공동-투약된 NK 세포의 회화적 도해이다.

도 6은 MM1S 종양 세포 접종 후 1일차("1-일 지연된 투약")에 1M 또는 3M 농도로 투여된 BCMA-CAR을 발현하는 NK 세포; 대조군으로서의 비-형질도입된 NK 세포(NT-NK)의 회화적 도해이다.

도 7은 MM1s 종양 세포 접종 후 1일차("1-일 지연된 투약")에, 100만 또는 300만 투여량으로 투여된 BCMA CAR을 포함하는 NK 세포가 투여된 마우스의 카플란 마이어 생존 곡선이다.

도 8은 BCMA-CAR을 포함하는 1000만 NK 세포로 생체내 처리 후 수집된 마우스 폐의 조직병리학적 분석의 슬라이드 도해이다.

도 9a는 1-일 지연된 투여량에서 마우스의 혈장 중 IL-15 분비를 나타내는 그래프이다. **도 9b**는 9-일 지연된 투여량에서 마우스의 혈장 중 IL-15 분비를 나타내는 그래프이다. **도 9c**는 9-일 지연된 투여량에서 마우스의 혈액 중 CAR-NK 세포의 증식을 나타내는 그래프이다. **도 9d**는 1-일 지연된 투여량에서 마우스의 혈액 중 CAR-NK 세포의 증식을 나타내는 그래프이다.

도 10a는 C11D5.3VLVH-Fc와 비교하여 CD28 힌지 또는 IgG 힌지를 포함하는 BCMA-CART 세포를 갖는 상이한 이펙터:표적(E:T) 비율로 처리한 후 종양 세포주 사멸을 나타내는 그래프이다. **도 10b**는 CD28 힌지 또는 IgG 힌지를 포함하는 BCMA-CART 세포를 갖는 상이한 E:T 비율로 처리한 후, 아폽토시스의 마커로서 %카스파아제+ MM1s 표적 세포를 나타내는 그래프이다. **도 10c**는 CD28 힌지 또는 IgG 힌지를 포함하는 BCMA-CART 세포를 갖는 상이한 E:T 비율로 처리한 후 BCMA 발현 MM1s 종양 세포의 %미토콘드리아 손상을 나타내는 그래프이다.

도 11a-b는 800ng/mL 가용성 BCMA의 존재 또는 부재 하에, 각각 BCMA28-1 및 BCMA28-2 CAR-함유 NK 세포에 의한 시험관내 세포독성의 그래픽적 표현이다. **도 11c**는 800ng/mL 가용성 BCMA의 존재 또는 부재 하에, C11D5.3Fc 양성 대조군에 의한 시험관내 세포독성의 그래픽적 표현이다.

도 12는 10M 용량으로 BCMA CAR NK를 종양 세포 접종 후 9일차("9-일 지연된 용량")(**도 12a**)에 투약하고 종양 세포 접종 후 1일차("1-일 지연된 용량")(**도 12b**)에 투약하여 처리된 마우스의 체중 변동을 나타내는 그래프이다.

도 **13**은 루시퍼라아제-발현 MM 종양 세포로 접종된 마우스에 이어서 BCMA28-2 발현 CAR-NK 세포 중 1회(10Mx1) 또는 2회(10M x2) 용량을 접종한 마우스의 생존율의 대표적인 이미지를 나타낸다.

도 14는 다중 종양 세포주에 대한 4개의 독립적인 제대혈 유닛(CBU) 공여자에서 생성된 NK 세포를 함유하는 BCMA28-2 CAR 작제물의 시험관내 사멸 활성을 나타낸다. 도 14a는 4개의 독립적인 CBU 공여자 대 동등한 비형질도입된(UTD) NK 세포에 걸쳐 MM1s($BCMA^{low}$) 세포에서 CAR-NK 세포를 함유하는 BCMA28-2 작제물의 시험관내 사멸 활성을 나타낸다. 도 14b는 4개의 독립적인 공여자 대 동등한 비형질도입된(UTD) NK 세포에 걸쳐 JJN3(BCMA KO) 세포에서 CAR-NK 세포를 함유하는 BCMA28-2 작제물의 시험관내 사멸 활성을 나타낸다. 도 14c는 4개의 CBU 독립적인 공여자 대 동등한 비형질도입된(UTD) NK 세포에 걸쳐 RPMI-8226($BCMA^{high}$) 세포에서 CAR-NK 세포를 함유하는 BCMA28-2 작제물의 시험관내 사멸 활성을 나타낸다. 도 14d는 4개의 CBU 독립적인 공여자 대 동등한 비형질도입(UTD) NK 세포에 걸쳐 JIN 모($BCMA^{med}$) 세포에서 CAR-NK 세포를 함유하는 BCMA28-2 작제물의 시험관내 사멸 활성을 나타낸다.

도 15a 및 15b는 다중 라운드의 종양 세포 첨가 후 시험관내 MM1S 종양 모델에서 BCMA28-2 발현 CAR NK 세포의 반복-사멸 항-종양 활성을 나타낸다.

도 16은 RPMI-8226 종양에 대한 BCMA28-2 작제물의 생체내 효능을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0066] **정의**

[0067] 오랫동안 지속된 특허법 협약에 따라, 청구항을 포함하여, 구성되는 단어와 함께 본 명세서에서 사용될 때 단어 "a" 및 "an"은 물품의 문법적 대상 중 하나 또는 하나 초과(즉, 적어도 하나)을 나타낸다. 예로서, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 초과의 요소를 의미한다. 본 개시내용의 일부 구현예는 본 개시내용의 하나 이상의 요소, 방법 단계, 및/또는 방법으로 이루어지거나 이로 본질적으로 이루어질 수 있다. 본원에 기재된 임의의 방법 또는 조성은 본원에 기재된 임의의 다른 방법 또는 조성과 관련하여 구현될 수 있고 상이한 구현예가 조합될 수 있다는 것이 고려된다.

[0068] 본 명세서 전반에 걸쳐, 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 용어 "포함하다", "포함한다" 및 "포함하는"은 언급된 단계 또는 요소 또는 단계 또는 요소 그룹의 포함을 암시하지만 임의의 다른 단계 또는 요소 또는 단계 또는 요소 그룹의 배제는 암시하지 않는 것으로 이해될 것이다. "~로 이루어지는"은 어구 "~로 이루어지는"에 따르는 모든 것을 포함하고 제한하는 것을 의미한다. 따라서, 어구 "~로 이루어지는"은 열거된 요소가 필요하거나 필수적이며, 다른 요소가 존재하지 않을 수 있다는 것을 나타낸다. "~로 본질적으로 이루어지는"은 어구 이후에 열거된 임의의 요소를 포함하는 것을 의미하고, 열거된 요소에 대해 본 개시내용에서 특정된 활동 또는 동작을 방해하거나 이에 기여하지 않는 다른 요소로 제한된다. 따라서, 어구 "~로 본질적으로 이루어진"은 열거된 요소가 요구되거나 필수적이지만, 다른 요소가 선택적이지 않고, 이들이 열거된 요소의 활동 또는 동작에 영향을 미치는지 여부에 따라 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다는 것을 나타낸다.

[0069] 본 명세서 전반에 걸쳐 "일(one) 구현예", "일(an) 구현예", "특정(particular) 구현예", "관련 구현예", "특정(certain) 구현예", "추가(additional) 구현예", 또는 "추가(further) 구현예" 또는 이들의 조합에 대한 언급은 구현예와 관련하여 기재된 특정 특성, 구조 또는 특징이 본 발명의 적어도 하나의 구현예에 포함된다는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전반에 걸쳐 다양한 장소에서의 전술한 어구의 출현이 반드시 모두 동일한 구현예를 지칭하는 것은 아니다. 또한, 특정 특성, 구조, 또는 특징은 하나 이상의 구현예에서 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다.

[0070] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "또는" 및 "및/또는"은 다중 구성요소를 조합하거나 배타적으로 기재하기 위해 활용된다. 예를 들어, "x, y, 및/또는 z"는 "x" 단독, "y" 단독, "z" 단독, "x, y, 및 z", "(x 및 y) 또는 z", "x 또는 (y 및 z)", 또는 "x 또는 y 또는 z"를 지칭할 수 있다. x, y, 또는 z는 구현예로부터 구체적으로 제외될 수 있는 것으로 고려된다.

[0071] 본 명세서 전반에 걸쳐, 용어 "약"은 값이 값을 결정하기 위해 이용되는 장치 또는 방법에 대한 오차의 표준 편차를 포함한다는 것을 나타내기 위해 세포 및 분자 생물학 영역에서 이의 평이하고 통상적인 의미에 따라 사용된다.

[0072] *친화도*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "친화도"는 결합 모이어티(예를 들어, 항원 결합 모이어티(예를 들어, 본원에 기재된 가변 도메인) 및/또는 Fc 수용체 결합 모이어티(예를 들어, 본원에 기재된 FcRn 결합 모이어티)) 및 표적(예를 들어, 항원(예를 들어, BCMA) 및/또는 FcR(예를 들어, FcRn)) 사이의 결합 상호작용의 특징

을 지칭하고, 이는 결합 상호작용의 강도를 나타낸다. 일부 구현예에서, 친화도의 측정치는 해리 상수(K_D)로서 표현된다. 일부 구현예에서, 결합 모이어티는 표적에 대해 높은 친화도(예를 들어, 약 10^{-7} M 미만, 약 10^{-8} M 미만, 또는 약 10^{-9} M 미만, 약 10^{-10} 미만, 약 10^{-10} 미만, 약 10^{-11} 미만, 약 10^{-12} 미만의 K_D)를 갖는다. 일부 구현예에서, 결합 모이어티는 표적에 대해 낮은 친화도(예를 들어, 약 10^{-7} M 초과, 약 10^{-6} M 초과, 약 10^{-5} M 초과, 또는 약 10^{-4} M 초과의 K_D)를 갖는다. 일부 구현예에서, 결합 모이어티는 제1 pH에서 표적에 대해 높은 친화도를 가지고, 이는 제2 pH에서 표적에 대해 낮은 친화도를 가지며, 이는 제1 pH와 제2 pH 사이의 pH 수준에서 표적에 대해 중간 친화도를 갖는다.

[0073] *대략 또는 약*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 하나 이상의 관심 값에 적용되는 용어 "대략" 또는 "약"은 명시된 참조 값과 유사한 값을 지칭한다. 특정 구현예에서, 용어 "대략" 또는 "약"은 달리 명시되지 않거나 또는 문맥으로부터 달리 명백하지 않는 한(해당 수가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우를 제외하고는) 언급된 참조 값의 어느 방향(초과 또는 미만)으로든 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 미만 내에 속하는 값의 범위를 지칭한다.

[0074] *항체*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 적어도 하나의 면역글로불린 가변 영역, 예를 들어, 면역글로불린 가변 도메인 또는 면역글로불린 가변 도메인 서열을 제공하는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 예를 들어, 항체는 중쇄(H) 가변 영역(본원에서 VH로 약칭됨) 및 경쇄(L) 가변 영역(본원에서 VL로 약칭됨)을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 항체는 2개의 중쇄(H) 가변 영역 및 2개의 경쇄(L) 가변 영역을 포함한다. 용어 "항체"는 항체의 항원-결합 단편(예를 들어, 단일 사슬 항체, Fab, $F(ab')_2$, Fd, Fv, 및 dAb 단편) 뿐만 아니라 완전한 항체, 예를 들어, 유형 IgA, IgG, IgE, IgD, IgM(뿐만 아니라 이의 서브타입)의 온전한 면역글로불린을 포괄한다. 면역글로불린의 경쇄는 카파 또는 람다 유형일 수 있다.

[0075] *항원-결합 단편 또는 이의 항체 단편*은 온전한 항체의 부분을 지칭한다. 항원-결합 단편 또는 이의 항체 단편은 항원(예를 들어, BCMA)에 결합하는 온전한 항체의 부분을 지칭한다. 항원-결합 단편은 온전한 항체의 항원 결정 가변 영역을 함유할 수 있다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')2, 및 Fv 단편, 선형 항체, 항체 모방체, scFv, 및 단일 사슬 항체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0076] *결합 모이어티*: 본원에서 사용되는 바와 같이, "결합 모이어티"는 표적, 예를 들어, 관심 표적(예를 들어, 항원(예를 들어, BCMA) 및/또는 FcR(예를 들어, FcRn))에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 분자 또는 분자의 일부이다. 결합 모이어티는 예를 들어 항체, 이의 항원 결합 단편, Fc 영역 또는 이의 Fc 단편, 항체 모방체, 펩티드, 및 앱타머를 포함한다.

[0077] *BCMA*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "BCMA"는 B-세포 성숙 항원을 지칭한다. 인간 BCMA 단백질은 184개의 아미노산: 1-54: 세포외 도메인; 55-77: 막횡단 도메인; 78-184: 세포질 도메인으로 이루어진다. BCMA의 아미노산 서열은 다음을 포함한다:

[0078] MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKISSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR(서열번호: 22), 세포외 도메인 서열은 밑줄이 쳐져 있음.)

[0079] BCMA는 신호전달 펩티드가 결여되고 다른 수용체, 예컨대 BAFF 수용체, 막횡단 활성화제, 사이클로필린 리간드 상호작용제 및 칼슘 조절제(TACI)와 유사하다. 이들 수용체는 B 세포 성숙 및 혈장 세포로의 분화에 중요한 역할을 한다. 이들 리간드는 MM 환자에서 발현이 증가하는 BAFF 및 APRIL을 포함한다. BCMA는 CD269로도 공지되어 있는 세포 표면 수용체 및 TNFRSF17 유전자에 의해 암호화되는 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 17(TNFRSF17)이다. 이 수용체는 주로 성숙 B 림프구에서 발현되며, 대부분의 경우 다발성 골수종(MM)에서 발현된다.

[0080] *상보성 결정 영역(CDR)*: 가변 도메인의 "CDR"은 Kabat, Chothia, Kabat 및 Chothia 둘 모두의 축적, AbM, 접촉, 및/또는 입체형태적 정의의 정의 또는 당업계에 널리 공지된 CDR 결정의 임의의 방법에 따라 식별되는 가변 영역 내의 아미노산 잔기이다. 항체 CDR은 Kabat 등에 의해 원래 정의된 초가변 영역으로서 식별될 수 있다. 예를 들어, Kabat 등, 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington D.C.를 참조한다. CDR의 위치는 또한 Chothia 등에 의해 원래 기재된 구조적 루프 구조로서 식별될 수 있다. 예를 들어, Chothia 등, Nature 342:877-883, 1989를 참조한다. CDR 식별에 대한 다

른 접근법은 "AbM 정의"를 포함하는데, 이는 Kabat와 Chothia 사이의 절충이고, 이는 옥스퍼드 몰레큘러(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어(현재 Accelrys®)를 사용하여 유래되거나, MacCallum 등, J. Mol. Biol., 262:732-745, 1996에 제시된 관찰된 항원 접촉을 기반으로 하는 CDR의 "접촉 정의"를 포함한다. 본원에서 CDR의 "입체형태적 정의"로 지칭되는 또 다른 접근법에서, CDR의 위치는 항원 결합에 대한 엔탈피 기여를 하는 잔기로서 식별될 수 있다. 예를 들어, Makabe 등, Journal of Biological Chemistry, 283: 1 156-1166, 2008을 참조한다. 또 다른 CDR 경계 정의는 상기 접근법 중 하나를 엄격하게 따르지 않을 수 있지만, 그럼에도 불구하고, 이들이 특정 잔기 또는 잔기의 그룹 또는 심지어 전체 CDR이 항원 결합에 유의하게 영향을 미치지 않는다는 예측 또는 실험적 발견에 비추어 단축 또는 연장될 수 있을지라도, 적어도 Kabat CDR의 부분과 중첩될 것이다. 본원에 사용된 바와 같이, CDR은 접근법의 조합을 포함하여 당업계에 공지된 임의의 접근법에 의해 정의된 CDR을 지칭할 수 있다. 본원에 사용된 방법은 이들 접근법 중 임의의 접근법에 따라 정의된 CDR을 활용할 수 있다. 하나 초과의 CDR을 함유하는 임의의 주어진 구현예에 대해, CDR은 Kabat, Chothia, 연장, AbM, 접촉, 및/또는 입체형태적 정의 중 임의의 것에 따라 정의될 수 있다.

[0081] *키메라 항원 수용체(CAR)*: 키메라 분자는 항원 결합 부분(예컨대 BCMA 항체) 및 신호전달 도메인, 예컨대 T 세포 수용체(예를 들어 CD3ζ)로부터의 신호전달 도메인을 포함한다. 전형적으로, CAR은 항원-결합 모이어티, 막횡단 도메인 및 엔도도메인으로 구성된다. 엔도도메인은 전형적으로 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프(ITAM), 예컨대 CD3ζ 또는 FceRIγ를 갖는 신호전달 사슬을 포함한다. 일부 예에서, 엔도도메인은 CD28 및/또는 CD137과 같은 적어도 하나의 추가 공동자극 도메인의 세포내 부분을 추가로 포함한다.

[0082] *불변 영역*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "불변 영역"은 항체의 하나 이상의 불변 영역 면역글로불린 도메인에 상응하거나 이로부터 유래된 폴리펩티드를 지칭한다. 불변 영역은 다음 면역글로불린 도메인 중 임의의 것 또는 전부를 포함할 수 있다: CH1 도메인, 힌지 영역, CH2 도메인, CH3 도메인(IgA, IgD, IgG, IgE, 또는 IgM으로부터 유래됨), 및 CH4 도메인 (IgE 또는 IgM으로부터 유래됨).

[0083] *조작된*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 본원에서 사용되는 용어 "조작된"은 세포, 핵산, 폴리펩티드, 벡터 등을 포함하는 사람의 손에 의해 생성되는 엔티티(entity)를 지칭한다. 적어도 일부 경우에, 조작된 엔티티는 합성이고, 본 개시내용에서 활용되는 방식으로 자연적으로 존재하거나 구성되지 않는 요소를 포함한다.

[0084] *에피토프*: 본원에서 사용되는 바와 같이, "에피토프"는 당업계의 용어이며, 항체가 특이적으로 결합할 수 있는 항원의 국부화된 영역을 지칭한다. 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩티드의 인접 아미노산(선형 또는 인접 에피토프)일 수 있거나, 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩티드 또는 폴리펩티드들의 2개 이상의 비-인접 영역(입체형태적, 비-선형, 불연속적, 또는 비-인접 에피토프)으로부터 합쳐질 수 있다. 특정 구현예에서, 항체가 결합하는 에피토프는, 예를 들어 NMR 분광법, X-선 회절 결정학 연구, ELISA 검정, 질량 분광법과 커플링된 수소/중수소 교환(예를 들어, 액체 크로마토그래피 전기분무 질량 분광법), 어레이-기반 올리고-펩티드 스캐닝 검정, 및/또는 돌연변이유발 맵핑(예를 들어, 부위-지정 돌연변이유발 맵핑)에 의해 결정될 수 있다. X-선 결정학의 경우, 결정화는 당업계에 공지된 임의의 방법(예를 들어, Giege R 등, (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4) : 339-350; McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen NE (1997) Structure 5 : 1269-1274; McPherson A (1976) J Biol Chem 251 : 6300-6303)을 사용하여 달성될 수 있다. 항체:항원 결정은 널리 공지된 X-선 회절 기술을 사용하여 연구될 수 있고, 당업계에 공지된 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들어, Refmac 및 Phenix를 사용하여 정제될 수 있다. 돌연변이유발 맵핑 연구는 당업자에게 공지된 임의의 방법을 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 기술을 포함하는 돌연변이유발 기술에 대한 설명은 Champe M 등, (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394 및 Cunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085를 참조한다.

[0085] *Fc 영역*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "Fc 영역"은 2개의 "Fc 폴리펩티드"의 이량체를 지칭하며, 각각의 "Fc 폴리펩티드"는 제1 불변 영역 면역글로불린 도메인을 제외한 항체 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, "Fc 영역"은 하나 이상의 이황화 결합, 화학적 링커, 또는 펩티드 링커에 의해 연결된 2개의 Fc 폴리펩티드를 포함한다. "Fc 폴리펩티드"는 IgA, IgD, 및 IgG의 마지막 2개의 불변 영역 면역글로불린 도메인, 및 IgE 및 IgM의 마지막 3개의 불변 영역 면역글로불린 도메인을 지칭하며, 이는 또한 이들 도메인에 대한 가요성 힌지 N-말단의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다. IgG의 경우, "Fc 폴리펩티드"는 면역글로불린 도메인 Cgamma2(Cγ2) 및 Cgamma3(Cγ3) 및 Cgamma1(Cγ1)과 Cγ2 사이의 힌지의 하단 일부를 포함한다. Fc 폴리펩티드의 경계는 다양할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 폴리펩티드는 일반적으로 T223 또는 C226 또는 P230에서 시작하여 이의 카르복실-말단까지 잔기를 포함하는 것으로 정의되며, 여기서 넘버링은 Kabat 등 (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Services, Springfield, VA)에서와 같은 EU 인덱스에 따른다. IgA의 경우, Fc

폴리펩티드는 면역글로불린 도메인 Calpha2(Cα2) 및 Calpha3(Cα3) 및 Calpha1(Cα1)과 Cα2 사이의 힌지 하단 일부를 포함한다. Fc 영역은 합성, 재조합, 또는 천연 공급원, 예컨대 IVIG로부터 생성될 수 있다.

[0086] *단리된*: 본원에서 사용되는 용어 "단리된"은 다른 물질이 실질적으로 없는 분자 또는 생물학적 물질 또는 세포 물질을 지칭한다. 일 양태에서, 용어 "단리된"은 천연 공급원에 존재하는 것과 같은, 각각 다른 DNA 또는 RNA, 또는 단백질 또는 폴리펩티드, 또는 세포 또는 세포 소기관, 또는 조직 또는 기관으로부터 분리된 핵산, 예컨대 DNA 또는 RNA, 또는 단백질 또는 폴리펩티드, 또는 세포 또는 세포 소기관, 또는 조직 또는 기관을 지칭한다. 용어 "단리된"은 또한 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 때 세포 물질, 바이러스 물질, 또는 배양 배지, 또는 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없는 핵산 또는 펩티드를 지칭한다. 또한 "단리된 핵산"은 단편으로서 자연적으로 발생하지 않고 자연 상태에서 발견되지 않는 핵산 단편을 포함하는 것을 의미한다. 용어 "단리된"은 또한 다른 세포 단백질로부터 단리된 폴리펩티드를 지칭하기 위해 본원에서 사용되며 이는 정제된 폴리펩티드 및 재조합 폴리펩티드 둘 모두를 포괄하는 것을 의미한다. 용어 "단리된"은 또한 다른 세포 또는 조직으로부터 단리된 세포 또는 조직을 지칭하기 위해 본원에서 사용되며, 이는 배양되고 조작된 세포 및 조직 둘 모두를 포괄하는 것을 의미한다.

[0087] K_a: 본원에서 사용되는 바와 같이, "K_a"는 특정 결합 모이어티 및 표적이 결합 모이어티/표적 복합체를 형성하는 회합률을 지칭한다.

[0088] K_d: 본원에서 사용되는 바와 같이, "K_d"는 특정 결합 모이어티/표적 복합체의 해리율을 지칭한다.

[0089] K_D: 본원에서 사용되는 바와 같이, "K_D"는 해리 상수를 지칭하며, 이는 K_d 대 K_a의 비율(즉, K_d/K_a)로부터 수득되고 이는 몰 농도(M)로서 표현된다. K_D 값은 당업계에 널리 확립된 방법을 사용하여, 예를 들어 표면 플라즈몬 공명을 사용하여, 또는 바이오센서 시스템, 예컨대 Biacore® 시스템을 사용하여 결정될 수 있다.

[0090] *자연 살해 세포*: 자연 살해 세포, 또는 NK 세포는 선천성 면역계에 중요한 세포독성 림프구의 유형이다. NK 세포가 수행하는 역할은 척추동물 적응 면역 반응에서 세포독성 T 세포의 역할과 유사하다. NK세포는 바이러스-감염된 세포에 대한 신속한 반응을 제공하여 감염 후 약 3일차에 작용하며 이는 종양 형성에 반응한다.

[0091] *퍼센트 동일성*: 본원에서 사용되는 바와 같이, "퍼센트 동일성", 및 2개의 서열 사이의 유사한 어구는 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수(즉, $\%\ \text{동일성} = \frac{\text{동일한 위치의 수}}{\text{총 위치의 수}} \times 100$, 갭의 수, 및 2개의 서열의 최적의 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 각각의 갭의 길이를 고려함)의 함수이다. 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 서열 동일성의 정도를 결정함에 있어서, 당업자는 소위 "보존적" 아미노산 치환을 고려할 수 있으며, 이는 일반적으로 아미노산 잔기가 유사한 화학적 구조의 또 다른 아미노산 잔기로 대체되고 이는 폴리펩티드의 기능, 활성 또는 다른 생물학적 특성에 거의 또는 본질적으로 영향을 미치지 않는 아미노산 치환으로서 기재될 수 있다. 이러한 보존적 아미노산 치환은, 예를 들어 WO 04/037999, GB-A-2 357 768, WO 98/49185, WO 00/46383 및 WO 01/09300으로부터 당업계에 널리 공지되어 있고; 이러한 치환의 (바람직한) 유형 및/또는 조합은 WO 04/037999뿐만 아니라 WO 98/49185로부터의 관련 교시 및 본원에 인용된 추가 참고문헌에 기반하여 선택될 수 있다.

[0092] *예방*: 본원에서 사용되는 바와 같이, "예방", 및 "예방된", "예방하는" 등과 같은 유사한 단어는, 질환 또는 병태, 예를 들어, 암의 발생 또는 재발의 가능성을 예방, 억제, 또는 감소시키기 위한 접근법을 나타낸다. 또한, 질환 또는 병태의 발병 또는 재발을 지연시키거나, 질환 또는 병태의 증상의 발생 또는 재발을 지연시키는 것을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "예방" 및 유사한 단어는 또한 질환 또는 병태의 발병 또는 재발 이전에 질환 또는 병태의 강도, 영향, 증상 및/또는 부담을 감소시키는 것을 포함한다.

[0093] *샘플*: 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "샘플"은 일반적으로 생물학적 샘플을 지칭한다. 샘플은 개체의 조직 또는 세포로부터 취해질 수 있다. 일부 예에서, 샘플은 조직 생검, 혈액(예를 들어, 전혈), 혈장, 세포외 유체, 건조된 혈반, 배양된 세포, 폐기된 조직을 포함하거나 이로부터 유래될 수 있다. 샘플은 수집 이전에 공급원으로부터 단리되었을 수 있다. 비-제한적인 예는 혈액, 뇌척수액, 흉수, 양수, 림프액, 타액, 소변, 대변, 눈물, 땀, 또는 점막 배설물, 및 수집 이전에 1차 공급원으로부터 단리된 다른 체액을 포함한다. 일부 예에서, 샘플은 샘플 제조 중에 이의 1차 공급원(세포, 조직, 체액, 예컨대 혈액, 환경 샘플 등)으로부터 단리된다. 샘플은 정제되거나 정제되지 않을 수 있거나, 그렇지 않으면 이의 1차 공급원으로부터 풍부화될 수 있다. 일부 경우에, 1차 공급원은 추가의 처리 이전에 균질화된다. 샘플은 여과되거나 원심분리되어 버피 코트, 지질, 또는 입자상 물질을 제거할 수 있다. 샘플은 또한 정제되거나 핵산에 대해 풍부화될 수 있거나, RNase로 처리될 수 있다. 샘

플은 온전하거나, 단편화되거나, 부분적으로 분해된 조직 또는 세포를 함유할 수 있다.

[0094] *단일-사슬 가변 단편(scFv)*: 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "단일-사슬 가변 단편" 또는 "scFv"는 V_H::V_L 이종이량체를 형성하기 위해 공유적으로 연결된 면역글로불린(예를 들어, 마우스 또는 인간)의 중쇄(V_H) 및 경쇄(V_L)의 가변 영역의 융합 단백질을 지칭한다. 중쇄(V_H) 및 경쇄(V_L)는 직접적으로 연결되거나 펩티드-암호화 링커(예를 들어, 10, 15, 20, 25개의 아미노산)에 의해 연결되며, 이는 V_H의 N-말단과 V_L의 C-말단, 또는 V_H의 C-말단과 V_L의 N-말단을 연결한다. 링커는 일반적으로 가요성을 위해 글리신이 풍부할 뿐만 아니라 용해성을 위해 세린 또는 트레오닌이 풍부하다. 링커는 세포외 항원-결합 도메인의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 연결할 수 있다. 링커의 비-제한적인 예는 Shen 등, Anal. Chem. 80(6):1910-1917 (2008) 및 WO 2014/087010에 개시되어 있고, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0095] *대상체*: 본원에서 사용되는 바와 같이 용어 "대상체"는 일반적으로 처리 또는 분석 중인 생물학적 샘플을 갖는 개체를 지칭하고, 특정 경우에 암을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 개체를 지칭한다. 대상체는 방법 또는 물질의 대상인 임의의 유기체 또는 동물 대상체일 수 있으며, 이는 포유동물, 예를 들어, 인간, 실험실 동물(예를 들어, 영장류(예컨대, 유인원, 원숭이, 오랑우탄, 또는 침팬지), 랫트, 마우스, 토끼), 가축(예를 들어, 소, 양, 염소, 돼지, 칠면조, 및 닭), 가정 애완동물(예를 들어, 개, 고양이, 및 설치류), 말 및 트랜스제닉 비-인간 동물을 포함한다. 대상체는 환자일 수 있고, 예를 들어, 양성 또는 악성 신생물, 또는 암과 같은 질환(의학적 병태로서 지칭될 수 있음)을 갖거나 갖는 것으로 의심될 수 있다. 대상체는 치료를 받고 있거나 또는 치료를 받고 있을 수 있다. 대상체는 무증상일 수 있다. 대상체는 건강한 개체일 수 있지만, 암의 예방이 바람직하다. 용어 "개체"는 적어도 일부 경우에 상호교환적으로 사용될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이 "대상체" 또는 "개체"는 의료 시설에 수용되거나 수용되지 않을 수 있고 의료 시설의 외래 환자로서 치료될 수 있다. 개체는 인터넷을 통해 하나 이상의 의료 조성물을 받고 있을 수 있다. 개체는 인간 또는 비-인간 동물의 임의의 나이를 포함할 수 있고, 따라서 성인 및 청소년(즉, 어린이) 둘 모두 및 유아를 포함하고, 자궁내 개체를 포함한다. 이 용어는 의학적 치료의 필요성을 의미하는 것이 아니므로, 개체는 임상 또는 기초 과학 연구 지원 여부에 관계없이 자발적으로 또는 비자발적으로 실험에 참여할 수 있다.

[0096] *표적*: 본원에서 사용되는 바와 같이, "표적"은 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 결합 모이어티에 의해 특이적으로 결합되는 임의의 분자이다. 일부 구현예에서, 표적은 본원에 기재된 항원(예를 들어, BCMA)이다. 일부 구현예에서, 표적은 FcR(예를 들어, FcRn)이다. 용어 "제1 표적" 및 "제2 표적"은 본원에서 동일한 분자 종의 2개의 분자가 아니라 2개의 별개의 분자 종의 분자를 지칭하기 위해 사용된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 제1 표적은 혈청 단백질이고, 제2 표적은 FcRn이다.

[0097] *치료적 유효량*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료적 유효량"은 임의의 의학적 치료에 적용가능한 합리적인 이익/위험 비율로, 치료된 대상체에 치료적 효과를 부여하는 치료적 분자(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체)의 양을 지칭한다. 치료적 효과는 객관적이거나(즉, 일부 시험 또는 마커에 의해 측정가능하거나) 주관적일 수 있다(즉, 대상체는 효과의 표시를 제공하거나 효과를 느낌). 특히, "치료적 유효량"은 특정 질환 또는 병태를 치료, 개선, 또는 예방하거나, 질환과 연관된 증상을 개선하고/하거나, 질환의 발병을 예방 또는 지연시키고/시키거나, 또한 질환의 증상의 중증도 또는 빈도를 감소시키는 것과 같은 검출가능한 치료적 또는 예방적 효과를 나타내는 데 효과적인 치료적 분자 또는 조성물의 양을 지칭한다. 치료적 유효량은 다중 단위 용량(multiple unit dose)을 포함할 수 있는 투약 레지멘(regimen)으로 투여될 수 있다. 임의의 특정 치료적 분자에 대해, 치료적 유효량(및/또는 유효 투약 레지멘 내의 적절한 단위 용량)은, 예를 들어 투여 경로에 따라, 다른 약학적 제제와의 조합에 따라 달라질 수 있다. 또한, 임의의 특정 대상체에 대한 특정 치료적 유효량(및/또는 단위 용량)은 치료되는 장애 및 장애의 중증도; 이용되는 특정 약학적 제제의 활성; 이용되는 특정 조성물; 대상체의 나이, 체중, 일반적인 건강 상태, 성별 및 식이; 투여 시간, 투여 경로, 및/또는 이용되는 특정 치료적 분자의 배출 또는 대사의 속도; 치료 기간; 및 의학 분야에 널리 공지된 바와 같은 유사한 인자를 포함하는 다양한 인자에 따라 다를 수 있다.

[0098] *치료*: 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료" 또는 "치료하는"은 질환 또는 병리학적 병태의 증상 또는 병리학에 대한 임의의 유익하거나 바람직한 효과를 포함하며, 이는 치료되는 질환 또는 병태, 예를 들어 암의 하나 이상의 측정가능한 마커에서 심지어 최소의 감소를 포함할 수 있다. 치료는 선택적으로 질환 또는 병태의 증상의 감소 또는 개선, 또는 질환 또는 병태의 진행의 지연을 수반할 수 있다. "치료"는 반드시 질환 또는 병태, 또는 이의 연관된 증상의 완전한 박멸 또는 치유를 나타내는 것은 아니다. 비-제한적인 예로서, 치료는 특정 질

환, 장애, 및/또는 병태, 예를 들어, BCMA 양성 암의 하나 이상의 증상 또는 특성을 부분적으로 또는 완전히 경감, 개선, 완화, 억제, 발병을 지연시키고/시키거나, 중증도를 감소시키고/시키거나 발병률을 감소시키는 치료적 분자(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 및 BCMA 결합 CAR)의 임의의 투여를 지칭할 수 있다. 일부 경우에서, 치료는 관련 질환, 장애 및/또는 병태의 징후를 나타내지 않는 대상체 및/또는 질환, 장애, 및/또는 병태의 초기 징후만을 나타내는 대상체의 치료일 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 이러한 치료는 관련 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 확립된 징후를 나타내는 대상체의 치료일 수 있다.

[0099] *종양 항원*: 본원에서 사용되는 바와 같이, "종양 항원"은 항원성을 갖는 생물학적 분자를 의미하며, 이의 발현은 암을 유발한다.

[0100] 치료적, 진단적, 또는 생리적 목적 또는 효과의 맥락에서의 임의의 방법은 또한 기재된 치료적, 진단적, 또는 생리적 목적 또는 효과를 달성하거나 구현하기 위해 본원에서 논의된 임의의 화합물, 조성물, 또는 제제의 "사용"과 같은 "용도" 청구항 언어에 기재될 수 있다.

[0101] **I. 항체**

[0102] 본 개시내용은 부분적으로, BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 대한 결합을 나타내는 조작된 항체 및 이의 항원 결합 단편의 발견에 기반한다. BCMA는 단일 막횡단 도메인, 세포질 C-말단, 및 세포외 N-말단을 갖는 단백질이다. BCMA는 성숙 B 림프구에 의해 우선적으로 발현되며, 이의 과발현 및 활성화는 생존, 성장, 부착, 파골세포 활성화, 혈관신생, 전이, 및 면역억제에 중요한 유전자의 향상된 발현과 연관된다. 다양한 혈액 악성종양에서 BCMA 발현에 대한 증거가 있으며, 이는 BCMA가 이들 질환에서 바이오마커 또는 치료적 표적으로서 중요한 역할을 할 수 있음을 시사한다.

[0103] 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 BCMA에 결합하도록 설계된다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 항-BCMA 항체 및 이의 단편은 인간 BCMA에 결합한다. 특정 구현예에서, 인간 BCMA는 Uniprot 참조 번호: Q02223(서열번호: 22)을 갖는 아미노산 서열, 또는 이의 단편을 포함하거나 이로 이루어진다. 서열번호: 22는 하기에 제공된다:

[0104] MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANI DLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR (**서열번호: 22**)

[0105] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 및 이의 항원 결합 단편은 BCMA의 세포외 도메인에 결합한다. 특정 구현예에서, 항-BCMA 항체 및 이의 항원 결합 단편은 인간 BCMA의 세포외 도메인에 결합한다. 특정 구현예에서, 인간 BCMA의 세포외 도메인은 서열번호: 22의 아미노산 1 내지 54를 포함하거나, 이로 이루어진다.

[0106] 특정 구현예에서, BCMA 단백질은 서열번호: 22에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 적어도 약 100% 동일한 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0107] 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 예를 들어, Fab, Fab', Fab'2, Fab_2, Fab_3, $F(ab')_2$, Fd, Fv, Feb, scFv, SMIP, 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디, 맥시바디, tandab, DVD, BiTe, TandAb 등 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 당업계에 공지된 다른 면역학적 결합 모이어티뿐만 아니라 항체-유사 특성을 갖는 면역글로불린, 중쇄 항체, 경쇄 항체, LRR-기반 항체, 또는 다른 단백질 스캐폴드일 수 있다. 상이한 클래스의 항체의 서브유닛 구조 및 3차원 구성이 당업계에 공지되어 있다.

[0108] 항체는 4개의 폴리펩티드 사슬, 예를 들어 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)의 면역글로불린 분자일 수 있다. 중쇄는 중쇄 가변 도메인 및 중쇄 불변 도메인을 포함할 수 있다. 중쇄 불변 도메인은 CH1, 힌지, CH2, CH3, 및 일부 경우에 CH4 영역을 포함할 수 있다. 적합한 중쇄 불변 영역은 임의의 면역글로불린(예를 들어, IgA, IgG, 또는 IgE)으로부터 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, 적합한 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, 또는 IgG4로부터 유래될 수 있다. 특정 구현예에서, 적합한 중쇄 불변 영역은 IgG1로부터 유래된다. 경쇄는 경쇄 가변 도메인 및 경쇄 불변 도메인을 포함할 수 있다. 경쇄 불변 도메인은 카파 경쇄 또는 람다 경쇄를 포함할 수 있다. 중쇄의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄의 경쇄 가변 도메인은 전형적으로, 프레임워크 영역(FR)이라고 하는 보다 보존된 영역이 산재된, 상보성 결정 영역(CDR)이라고 하는 가변성의 영역으로 더욱 세분화될 수 있다. 이러한 중쇄 및 경쇄 가변 도메인은 각각 3개의 CDR 및 4개의 프레임워크 영역을 포함할 수 있으며, 이는 아미노-말단에서 카르복실-말단으로 다음 순서로 배열될 수 있다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4, 이들 중 하나 이상은 본원에 기재된 바와 같이 조작될 수 있음. 각 도메인에 아미노산의 할당은 면역학적 관심 단백질의 Kabat 서열의 정의에 따른다(National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 및 1991)), 또는 Chothia & Lesk *J. Mol.*

Biol. 196:901-917 (-1987); Chothia 등 *Nature* 342:878-883 (1989). 본원에서 사용되는 바와 같이, CDR은 중쇄(HCDR1, HCDR2, HCDR3) 및 경쇄(LCDR1, LCDR2, LCDR3) 각각에 대해 지칭된다.

[0109] 본 발명의 구현예는 통상적인 넘버링 시스템, 예컨대 IMGT, Kabat 및 Chothia 넘버링 시스템을 사용하여 식별되는 본원에 기재된 vH 및 vL 도메인에서 발견되는 CDR을 포함하는 항체를 포함한다. 이러한 넘버링 시스템은 당업계에 널리 공지되어 있다.

[0110] **중쇄 가변 영역**

[0111] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 공통 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 중쇄 가변 영역(VH) 상보성 결정 영역(CDR) 서열을 포함한다:

[0112] vHCDR1: SYAIH (서열번호: 2)

[0113] vHCDR2: VTWHDGSNKYYAESVMG (서열번호: 3)

[0114] vHCDR3: AKFGEPQYFQH (서열번호: 4)

[0115] 특정 구현예에서, CDR은 Kabat 넘버링 시스템에 따라 식별된다.

[0116] 일부 구현예에서, 중쇄 가변 영역(VH)은 QITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTLVTVSS (**서열번호: 1**)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0117] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 포함한다:

[0118] QITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (**서열번호: 54**).

[0119] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 54에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 한편, 본원에 기재된 vHCDR1, vHCDR2, 및/또는 vHCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0120] 일부 구현예에서, 조작된 항체는 서열번호: 1에 대해 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, VH는 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 70%, 75%, 80%(*예를 들어*, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95%) 동일하거나 상동한 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, VH는 서열번호: 1에 제시된 아미노산 서열에 대해 약 80%, 약 81%, 약 82%, 약 83%, 약 84%, 약 85%, 약 86%, 약 87%, 약 88%, 약 89%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 또는 약 100% 동일하거나 상동한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 1에 대해 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.

[0121] 일부 구현예에서, 항-BCMA 가변 중쇄 영역은 하기 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화된다:

[0122] cagatcactttaagggagagcggaggcgatgtggtgcagcccggtcgttctttaagactgagctgtgccgccagcggcttcaccttcagcagctacgccatccactgggtgagacaagctcccggtaaaggtttagagtgggtggctgtgacttggcacgacggctccaacaagtactatgccgagagcgtgatgggtcgtttcaccatctctcgtgacaacagcaagaacactttatatttacacatgaactctttaagggccgaggacaccggcgtgtactactgcgccagagccaagttcggcgagccccagtacttccagcactggggccaaggtacactggtgaccgtgtccagc (**서열번호: 55**).

[0123] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 중쇄는 하기 서열번호: 56에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화된다:

[0124] cagatcactttaagggagagcggaggcgatgtggtgcagcccggtcgttctttaagactgagctgtgccgccagcggcttcaccttcagcagctacgccatccactgggtgagacaagctcccggtaaaggtttagagtgggtggctgtgacttggcacgacggctccaacaagtactatgccgagagcgtgatgggtcgtttcaccatctctcgtgacaacagcaagaacactttatatttacacatgaactctttaagggccgaggacaccggcgtgtactactgcgccagagccaagttcggc

gagccccagtacttccagcactggggccaaggtacactggtgaccgtgtccagcgctagcaccaagggcccatcggtcttcccctggcaccctcctccaag
agcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtg
cacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaac
gtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctg
gggggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaa
gaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtc
agcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc
aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtataccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggc
ttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttc
ctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaag
agcctctccctgtccccgggt (**서열번호: 56**).

[0125] 일부 구현예에서, 조작된 항체는 서열번호: 56에 대해 동일한 핵산 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 54에 대해 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2 개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 항체를 암호화하는 핵산 서열을 포함한다.

[0126] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 9에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는 한편, 본원에 기재된 vHCDR1, vHCDR2, 및/또는 vHCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0127] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 공통 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 중쇄 가변 영역(VH) 상보성 결정 영역(CDR) 서열을 포함한다:

[0128] vHCDR1: SYAIH (서열번호: 2)

[0129] vHCDR2: VTWHDGSNKYYAESVMG (서열번호: 3)

[0130] vHCDR3: AKFGEPQYFQH (서열번호: 4)

[0131] 특정 구현예에서, CDR은 Kabat 넘버링 시스템에 따라 식별된다.

[0132] 일부 구현예에서, 중쇄의 가변 영역은 EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFG EPQYFQHWGQGTTVTVSS (**서열번호: 9**)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0133] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기에 대해 적어도 70%, 75%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다:

[0134] EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFG EPQYFQHWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (**서열번호: 57**).

[0135] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 57에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 한편, 본원에 기재된 vHCDR1, vHCDR2, 및/또는 vHCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0136] 일부 구현예에서, 조작된 항체는 서열번호: 57에 대해 동일한 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, VH는 서열번호: 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 70%(*예를 들어*, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 95%) 동일하거나 상동한 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, VH는 서열번호: 9에 제시된 아미노산 서열에 대해 약 70%, 75%, 80%, 약 81%, 약 82%, 약 83%, 약 84%, 약 85%, 약 86%, 약 87%, 약 88%, 약 89%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 또는 약 100% 동일하거나 상동한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 9에 대해 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12,

11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.

[0137] 일부 구현예에서, 항-BCMA 가변 중쇄는 하기 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화된다:

[0138] gaggtgcagttagtggagagcggaggcgatgtggtgcagcccggtcgttctttaagactgagctgtgccgccagcggcttcaccttcagcagctacgccatc
cactgggtgagacaagctcccggtaaaggtttagagtgggtggctgtgacttggcacgacggctccaacaagtactatgccgagagcgtgatgggtcgtttc
accatctctcgtgacaacagcaagaacactttatatttacacatgaactctttaagggccgaggacaccggcgtgtactactgcgccagagccaagttcggc
gagccccagtacttccagcactggggccaaggtacaaccgtgaccgtgtccagc (**서열번호: 58**).

[0139] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 하기에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 핵산 서열을 포함한다:

[0140] gaggtgcagttagtggagagcggaggcgatgtggtgcagcccggtcgttctttaagactgagctgtgccgccagcggcttcaccttcagcagctacgccatc
cactgggtgagacaagctcccggtaaaggtttagagtgggtggctgtgacttggcacgacggctccaacaagtactatgccgagagcgtgatgggtcgtttc
accatctctcgtgacaacagcaagaacactttatatttacacatgaactctttaagggccgaggacaccggcgtgtactactgcgccagagccaagttcggc
gagccccagtacttccagcactggggccaaggtacaaccgtgaccgtgtccagcgctagcaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaag
agcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtg
cacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaac
gtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctg
gggggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaa
gaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtc
agcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcc
aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtataccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggc
ttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttc
ctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaag
agcctctccctgtccccgggt (**서열번호: 59**).

[0141] 일부 구현예에서, 조작된 항체는 서열번호: 59에 대해 동일한 중쇄 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 9에 대해 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 항체를 암호화하는 핵산 서열을 포함한다.

[0142] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 59에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되는 한편, 본원에 기재된 vHCDR1, vHCDR2, 및/또는 vHCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0143] **표 1.** 항-BCMA 중쇄 가변 CDR 및 V_H

Ab #	VH	서열번호:	HCDR1	서열번호:	HCDR2	서열번호:	HCDR3	서열번호:
1	QITLRESGDVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYAIHWVRQAPGK GLEWVAVTWHDGSNKYYAES VMGRFTISRDNSKNTLYLHMN SLRAEDTGVYYCARAKFGEPQY FQHWGQGTLVTVSS	1	SYAIH	2	VTWHDGSNKY AESVMG	3	AKFGEPQYFQH	4
1	핵산 서열							
	cagatcactttaagggagagcggagg cgatgtggtgcagcccggtcgttctttta agactgagctgtgccgccagcggctt caccttcagcagctacgccatccactg ggtgagacaagctcccggtaaaggtt tagagtgggtggctgtgacttggcac gacggctccaacaagtactatgccga gagcgtgatgggtcgtttcaccatctct cgtgacaacagcaagaacactttatatt tacacatgaactctttaaggccgaagg acaccggcgtgtactactgcgccaga gccaagttcggcgagcccccagtacttc cagcactggggccaaggtacactggt gaccgtgtccagc	55	agctacg ccatccac	60	gtgacttggcacgac ggctccaacaagtact atgccgagagcgtga tgggt	61	gccaagttcggcga gccccagtacttcca gcac	62

[0144]

[0145]

2	QITLRESGGDVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYAIHWVRQAPGK GLEWVAVTWHDGSNKYYAES VMGRFTISRDNSKNTLYLHMN SLRAEDTGVYYCARAKFGEPQY FQHWGQGTLVTVSS	1	SYAIH	2	VTWHDGSNKYY AESVMG	3	AKFGEPQYFQH	4
핵산 서열								
2	cagatcactttaagggagagcggagg cgatgtggtgcagcccggtcgttcttta agactgagctgtgccgccagcggctt caccttcagcagctacgccatccactg ggtgagacaagctcccggtaaaggtt tagagtgggtggctgtgacttggcac gacggctccaacaagtactatgccga gagcgtgatgggtcgtttcaccatctct cgtgacaacagcaagaacactttatatt tacacatgaactctttaagggccgagg acaccggcgtgtactactgcgccaga gccaagttcggcgagccccagtacttc cagcactgggggccaaggtacactggt gaccgtgtccagc	55	agctacg ccatccac	60	gtgacttggcacgac ggctccaacaagtact atgccgagagcgtga tgggt	61	gccaagttcggcga gccccagtacttcca gcac	62

3	EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYAIHWVRQAPGK GLEWVAVTWHDGSNKYYAES VMGRFTISRDNSKNTLYLHMN SLRAEDTGVYYCARAKFGEPQY FQHWGQGTTVTVSS	9	SYAIH	2	VTWHDGSNKYY AESVMG	3	AKFGEPQYFQH	4
핵산 서열								
3	gaggtgcagttagtggagagcggag gcgatgtggtgcagcccggtcgttctt taagactgagctgtgccgccagcggc ttcaccttcagctacgccatccact gggtgagacaagctcccggtaaaggt ttagagtgggtggctgtgacttggcac gacggctccaacaagtactatgccga gagcgtgatgggtcgtttcaccatctct cgtgacaacagcaagaacactttatatt tacacatgaactctttaagggccgagg acaccggcgtgtactactgcgccaga gccaagttcggcgagccccagtacttc cagcactggggccaaggtacaaccgt gaccgtgtccagc	58	Agctacg ccatccac	60	gtgacttggcacgac ggctccaacaagtact atgccgagagcgtga tgggt	61	gccaagttcggcga gccccagtacttcca gcac	62

[0146]

[0147] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 임의의 이러한 중쇄 CDR 서열은 본원에 개시되거나 당업계에 공지된 임의의 형식의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 존재할 수 있는 바와 같이, 본원에 개시되거나 당업계에 공지된 임의의 프레임워크 영역, CDR, 또는 불변 도메인, 또는 이의 부분을 포함하는 본원에 제공되거나 당업계에 공지된 임의의 다른 항체 서열 또는 도메인과, 예를 들어 분자 생물학 기술에 의해 용이하게 조합될 수 있다.

[0148] 본원에 기재된 다양한 조작된 항체에서, 중쇄 불변 도메인은 임의의 클래스(또는 서브클래스) 일 수 있다. 본원에 기재된 다양한 조작된 항체에서, 중쇄 불변 도메인은 서브클래스, 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2를 포함하는 IgG, IgM, IgA, IgD, 또는 IgE 중 임의의 하나 이상의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 다양한 실시양태에서, 본원에 기재된 조작된 항체의 불변 도메인은 면역글로불린 중쇄 불변 도메인의 2개 이상의 클래스(또는 서브클래스)의 혼합물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항-BCMA 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD, 또는 IgE 클래스 불변 도메인으로부터 선택된 면역글로불린 불변 도메인의 서열을 갖는 불변 도메인의 제1 부분 및 제1 부분과 상이하고 IgG, IgM, IgA, IgD, 또는 IgE 클래스 불변 도메인으로부터 선택된 면역글로불린 불변 도메인의 서열을 갖는 불변 도메인의 제2 부분을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체의 불변 도메인은 불변 도메인의 특정 클래스의 2개 이상의 서브클래스, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 서브클래스 불변 도메인으로부터 선택된 면역글로불린 불변 도메인의 서열을 갖는 불변 도메인의 제1 부분 및 제1

부분과 상이하고 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 서브클래스 불변 도메인으로부터 선택된 면역글로불린 불변 도메인의 서열을 갖는 불변 도메인의 제2 부분의 혼합물을 포함할 수 있다. 일부 특정 구현예에서, 불변 도메인은 IgG2 불변 도메인의 전부 또는 부분 및 IgG4 불변 도메인의 전부 또는 부분을 포함한다.

[0149] 일부 예에서, 항-BCMA 항체는 하나 이상의 Fc 수용체(예를 들어, FcɣRI, FcɣRIIA, FcɣRIIB, FcɣRIIIA, FcɣRIIIB, FcɣRIV, 또는 FcRn 수용체)에 대한 (참조 불변 영역과 비교하여) 변경된 결합을 나타내는 항체 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하나 이상의 Fcɣ 수용체(예를 들어, FcɣRI, FcɣRIIA, FcɣRIIB, FcɣRIIIA, FcɣRIIIB, 또는 FcɣRIV)에 대한 (참조 불변 영역과 비교하여) 감소된 결합을 나타내는 항체 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 혈청 pH 및/또는 세포내 pH에서 (참조 불변 영역과 비교하여) FcRn 수용체에 대한 증가된 결합을 나타내는 항체 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함한다.

[0150] 예를 들어, 항-BCMA 항체는 아미노산 잔기 251-256, 285-290, 308-314, 385-389, 및 428-436(Kabat 넘버링(Kabat 등, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH)) 중 하나 이상의 아미노산 부가, 결실, 또는 치환을 포함하도록 조작된 IgG 항체의 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함할 수 있다. 이론에 구애됨이 없이, 이들 불변 영역, Fc 영역, 또는 Fc 단편 아미노산 중 하나 이상이 Fc 수용체, 예를 들어 FcRn과의 상호작용을 매개하는 것으로 여겨진다. 일부 구현예에서, 이들 개시된 아미노산 중 하나 이상은 히스티딘, 아르기닌, 리신, 아스파르트산, 글루탐산, 세린, 트레오닌, 아스파라긴, 또는 글루타민으로 치환된다. 일부 구현예에서, 비-히스티딘 잔기는 히스티딘 잔기로 치환된다. 일부 구현예에서, 히스티딘 잔기는 비-히스티딘 잔기로 치환된다.

[0151] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 위치 308, 309, 311, 312 및 314 중 하나 이상에서 아미노산 변형을 갖는 IgG 항체의 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 위치 308, 309, 311, 312 및 314 중 하나 이상에서 각각 트레오닌, 프롤린, 세린, 아스파르트산 및 류신으로 치환된다. 일부 구현예에서, 위치 308, 309, 및 311 중 하나 이상에서 잔기는 각각 이소류신, 프롤린, 및 글루탐산으로 치환된다. 또 다른 구현예에서, 위치 308, 309, 311, 312, 및 314 중 하나 이상에서 잔기는 각각 트레오닌, 프롤린, 세린, 아스파르트산, 및 류신으로 치환된다.

[0152] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 위치 251, 252, 254, 255, 및 256 중 하나 이상에서, 보다 구체적으로, 이들 위치 중 하나 이상에서 치환을 갖는 아미노산 변형을 갖는 IgG 항체의 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 잔기 251은 류신 또는 아르기닌으로 치환되고/되거나, 잔기 252는 류신, 티로신, 페닐알라닌, 세린, 트립토판 또는 트레오닌으로 치환되고/되거나, 잔기 254는 트레오닌 또는 세린으로 치환되고/되거나, 잔기 255는 류신, 글리신, 이소류신 또는 아르기닌으로 치환되고/되거나, 잔기 256은 세린, 페닐알라닌, 아르기닌, 글루타민, 글루탐산, 아스파르트산, 알라닌, 아스파라긴 또는 트레오닌으로 치환된다. 일부 구현예에서, 잔기 251은 류신으로 치환되고/되거나, 잔기 252는 티로신 또는 류신으로 치환되고/되거나, 잔기 254는 트레오닌 또는 세린으로 치환되고/되거나, 잔기 255는 아르기닌으로 치환된다. 또 다른 구현예에서, 잔기 252는 페닐알라닌으로 치환되고/되거나 잔기 256은 아스파르트산으로 치환된다. 일부 구현예에서, 잔기 251은 류신으로 치환되고/되거나, 잔기 252는 티로신으로 치환되고/되거나, 잔기 254는 트레오닌 또는 세린으로 치환되고/되거나 잔기 255는 아르기닌으로 치환된다.

[0153] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 위치 428, 433, 434, 435, 및 436 중 하나 이상에서, 보다 구체적으로 이들 위치 중 하나 이상에서 치환을 갖는 아미노산 변형을 갖는 IgG 항체의 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 잔기 428은 메티오닌, 트레오닌, 류신, 페닐알라닌, 또는 세린으로 치환되고/되거나, 잔기 433은 리신, 아르기닌, 세린, 이소류신, 프롤린, 글루타민, 또는 히스티딘으로 치환되고/되거나, 잔기 434는 페닐알라닌, 티로신, 또는 히스티딘으로 치환되고/되거나, 잔기 435는 티로신으로 치환되고/되거나, 잔기 436은 히스티딘, 아스파라긴, 아르기닌, 트레오닌, 리신, 메티오닌, 또는 트레오닌으로 치환된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 위치 433, 434, 435, 및 436에서의 잔기는 각각 리신, 페닐알라닌, 티로신, 및 히스티딘으로 치환된다. 일부 구현예에서, 잔기 428은 메티오닌으로 치환되고/되거나 잔기 434는 티로신으로 치환된다.

[0154] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 위치 385, 386, 387, 및 389 중 하나 이상에서 아미노산 변형을 갖는, 보다 구체적으로, 이들 위치 중 하나 이상에서 치환을 갖는 IgG 항체의 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 잔기 385는 아르기닌, 아스파르트산, 세린, 트레오닌, 히스티딘, 리신, 또는 알라닌으로 치환되고/되거나, 잔기 386은 트레오닌, 프롤린, 아스파르트산, 세린, 리신, 아르기닌, 이소류신, 또는 메티오닌으로 치환되고/되거나, 잔기 387은 아르기닌, 히스티딘, 세린, 트레오닌, 알라닌, 또는 프롤린으로 치

환되고/되거나 잔기 389는 프롤린 또는 세린으로 치환된다. 일부 구현예에서, 위치 385, 386, 387, 및 389 중 하나 이상에서 잔기는 각각 아르기닌, 트레오닌, 아르기닌, 및 프롤린으로 치환된다. 일부 구현예에서, 위치 385, 386, 및 389 중 하나 이상에서 잔기는 각각 아스파르트산, 프롤린, 및 세린으로 치환된다.

[0155] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 다음 치환 중 하나 이상을 갖는 IgG 항체의 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편을 포함한다: 잔기 251에서의 류신, 잔기 252에서의 티로신 또는 류신, 잔기 254에서의 트레오닌 또는 세린, 잔기 255에서의 아르기닌, 잔기 308에서의 트레오닌, 잔기 309에서의 프롤린, 잔기 311에서의 세린, 잔기 312에서의 아스파르트산, 잔기 314에서의 류신, 잔기 385에서의 아르기닌, 잔기 386에서의 트레오닌, 잔기 387에서의 아르기닌, 잔기 389에서의 프롤린, 잔기 428에서의 메티오닌, 잔기 433에서의 리신, 잔기 434에서의 페닐알라닌 또는 티로신, 위치 435에서의 티로신, 및/또는 위치 436에서의 티로신. 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편에 포함될 수 있는 추가 아미노산 치환은 예를 들어 미국 특허 번호 6,277,375; 8,012,476; 및 8,163,881에 기재된 것을 포함한다.

[0156] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 예를 들어 PCT 공보 번호 WO 94/28027 및 WO 98/47531; 및 Xu 등 (2000) Cell Immunol 200:16-26에 기재된 Ala-Ala 돌연변이를 포함하는 중쇄 불변 도메인을 포함한다. 따라서, 일부 구현예에서, Ala-Ala 돌연변이를 포함하는 중쇄 불변 영역 내 하나 이상의 돌연변이를 갖는 항-BCMA 항체는 이펙터 기능이 감소되거나 없다. 이들 구현예에 따르면, 본원에 기재된 항-BCMA 항체의 불변 영역은 위치 234에서 알라닌으로의 치환 및/또는 위치 235에서 알라닌으로의 돌연변이(EU 넘버링)를 포함할 수 있다.

[0157] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 임의의 이러한 중쇄 불변 도메인 서열은 본원에 개시되거나 당업계에 공지된 임의의 형식의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 존재할 수 있는 바와 같이, 본원에 개시되거나 당업계에 공지된 임의의 프레임워크 영역, CDR, 또는 불변 도메인, 또는 이의 부분을 포함하는 본원에 제공되거나 당업계에 공지된 임의의 다른 항체 서열 또는 도메인과, 예를 들어 분자 생물학 기술에 의해, 용이하게 조합될 수 있다.

[0158] **경쇄 가변 영역**

[0159] 또한, 경쇄 상보성 결정 영역 LCDR1-3을 포함하는 하나 이상의 경쇄 가변 영역에 다양한 명시된 서열을 포함하는 BCMA 항체 또는 이의 단편이 제공된다. 다양한 구현예에서, 명시된 경쇄 가변 영역을 갖는 분자에는 상기 논의된 바와 같은 중쇄 서열이 제공된다. 특정 구현예에서, CDR 은 Kabat 넘버링 시스템에 따라 식별된다.

[0160] 따라서, 일부 양태에서, 본 발명은 RASQGISSYLA(서열번호: 11)(LCDR1), AASTLQS(서열번호: 7)(LCDR2), 및 QQLNSYPWT(서열번호: 14)(LCDR3)의 상보성 결정 영역(CDR) 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0161] 일부 구현예에서, 본 발명은 RASQGINNYLA(서열번호: 6)(LCDR1), AASTLQS(서열번호: 7)(LCDR2), 및 QQLKSYPFT(서열번호: 8)(LCDR3)의 상보성 결정 영역(CDR) 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0162] 일부 구현예에서, 본 발명은 RASQGISSYLA(서열번호: 11)(LCDR1), AASTLQS(서열번호: 7)(LCDR2), 및 QQLNSYPFT(서열번호: 12)(LCDR3)의 상보성 결정 영역 (CDR) 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0163] 일부 구현예에서, 본 발명은 서열번호: 5, 10 또는 13의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0164] 일부 구현예에서, 본 발명은 SYAIH(서열번호: 2)(HCDR1), VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)(HCDR2) 및 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)(HCDR3)의 중쇄 가변 상보성 결정 영역(CDR) 서열 및 RASQGISSYLA(서열번호: 11)(LCDR1), AASTLQS(서열번호: 7)(LCDR2), 및 QQLNSYPWT(서열번호: 14)(LCDR3)의 상보성 결정 영역(CDR) 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는 BCMA 항체 또는 이의 단편을 제공한다.

[0165] 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 SYAIH(서열번호: 2)(HCDR1), VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)(HCDR2) 및 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)(HCDR3)의 중쇄 가변 상보성 결정 영역(CDR) 서열 및 RASQGINNYLA(서열번호: 6)(LCDR1), AASTLQS(서열번호: 7)(LCDR2), 및 QQLKSYPFT(서열번호: 8)(LCDR3)의 상보성 결정 영역(CDR) 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0166] 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 SYAIH(서열번호: 2)(HCDR1), VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)(HCDR2) 및AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)(HCDR3)의 중쇄 가변 상보성 결정 영역(CDR) 서열 및 RASQGISSYLA(서열번호: 11)(LCDR1), AASTLQS(서열번호: 7)(LCDR2), 및 QQLNSYPFT(서열번호: 12)(LCDR3)의 상보성 결정 영역

(CDR) 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0167] 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변(VL) 영역; 및 서열번호: 1에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다.

[0168] 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 10에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 동일한 핵산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변(VL) 영역; 및 서열번호: 9에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 동일한 핵산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다.

[0169] 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 13에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 경쇄 가변(VL) 영역; 및 서열번호: 1에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 중쇄 가변(VH) 영역을 포함한다.

[0170] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 **표 2**에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(VL) 및/또는 LCDR을 포함한다.

[0171] **표 2.** 항-BCMA 경쇄 가변 CDR 및 V_L

Ab #	VL	서열번호:	LCDR1	서열번호:	LCDR2	서열번호:	LCDR3	서열번호:
1	DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGI SSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSG VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYY CQQLNSYPWTFGQGTKVDIK	13	RASQGISSYLA	11	AASTLQS	7	QQLNSYPW T	14
핵산 서열								
1	gacatcgtgatgacccagagccccagctttctgag cgccagcgtgggcgatcgtgtgaccatcacttgtc gtgccagccaaggtatcagcagctatttagcttgg taccagcagaagcccggcaaggcccccaagctg ctgatctacgccgccagcactttacagagcggcgt gccttctcgttttctggcagcggctctggcaccga gttcactttaaccatcagctctttacagcccgagga cttcgccacctattactgccagcagctgaactcctac ccttggaccttcggccaaggtaccaaggtggacat caag	63	cgtgccagccaa ggtatcagcagc tatttagc	64	gccgccagc actttacaga gc	65	cagcagctga actcctaccctt ggacc	66
2	DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGI NNYLAWYQQKPGIAPKLLIYAASTLQSG VPSRFGGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYY CQQLKSYPFTFGPGTKVEIK	5	RASQGINNYL A	6	AASTLQS	7	QQLKSYPFT	8
핵산 서열								
2	gacatcgtgatgacccagagccctagttttaagc gccagcgtgggcgacagagtgaccatcacttgtc gtgccagccaagggtatcaacaactatttagcttggt	67	cgtgccagccaa ggtatcaacaact atttagct	68	gccgccagc acactgcaga gc	69	cagcagctga agagctacccc ttcacc	70

[0172]

	accagcagaagcccggtatcgcccccaagctgct gatctacgccgccagcacactgcagagcggcgtg cctagcagatttggtggcagcggctctggcacag agttcactttaaccatcagctctttacagcccgagg acttcgccacctactactgccagcagctgaagagc taccccttcaccttcggccccggcaccaaggtgga gatcaag	DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGI SSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSG VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYY CQQLNSYPFTFGPGTKVDIK	10	RASQGISSYLA	11	AASTLQS	7	QQLNSYPFT	12
핵산 서열									
3	gacatcgtgatgacccagagccctagctttttaagc gccagcgtgggcgacagagtgaccatcacttgtc gtgccagccaaggtatcagcagctatttagcttggg taccagcagaagcccggcaaggccccaagctg ctgatctacgccgccagcacttacagagcggagt gcctagcagattcagcggcagcggctccggcacc gagttcactttaaccatcagctctttacagcccgag gacttcgccacctactactgccagcagctgaacag ctacccctcaccttcggccccggcaccaaggtgg acatcaag	71	cgtgccagccaa ggtatcagcagc tatttagc	64	gccgccagc actttacaga gc	65	cagcagctga acagctaccc ttcacc	72

[0173]

[0174] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 5, 10 또는 13에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0175] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 5, 10 또는 13에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 한편, 본원에 기재된 vLCDR1, vLCDR2, 및/또는 vLCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0176] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 73, 74 또는 75에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0177] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기 서열번호: 73에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열을 포함한다:

[0178] DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPWTFGQGT KVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC (**서열번호: 73**).

[0179] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기 서열번호: 74에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열을 포함한다:

[0180] DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGINNYLAWYQQKPGIAPKLLIYAASTLQSGVPSRFGGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLKSYPFTFGPGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC (**서열번호: 74**).

[0181] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 75에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열을 포함한다:

[0182] DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPFTFGPGT KVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC (**서열번호: 75**).

[0183] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 73, 74 또는 75에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 한편, 본원에 기재된 vL CDR1, vLCDR2, 및/또는 vLCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0184] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 5, 10 및 13에 대해 동일한 가변 경쇄(VL) 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 5, 10 및 13에 대해 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.

[0185] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 76-78에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 조작된 항체는 서열번호: 76-78에 대해 동일한 경쇄 핵산 서열을 포함한다.

[0186] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기 서열번호: 76에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 핵산 서열을 포함한다:

[0187] gacatcgtgatgacccagagccccagctttctgagcgccagcgtgggcgatcgtgtgaccatcacttgtcgtgccagccaaggtatcagcagctatttagct tggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctacgccgccagcactttacagagcggcgtgccttctcgtttttctggcagcggctctggc accgagttcactttaaccatcagctctttacagcccgaggacttcgccacctattactgccagcagctgaactcctacccttggaccttcggccaaggtacc aaggtggacatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctg aataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggac agcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgccc gtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt (**서열번호: 76**).

[0188] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기 서열번호: 77에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 핵산 서열을 포함한다,

[0189] gacatcgtgatgacccagagccctagcttttaagcgccagcgtgggcgacagagtgaccatcacttgtcgtgccagccaaggtatcaacaactatttagct tggtaccagcagaagcccggtatcgcccccaagctgctgatctacgccgccagcacactgcagagcggcgtgcctagcagatttggtggcagcggctctggc acagagttcactttaaccatcagctctttacagcccgaggacttcgccacctactactgccagcagctgaagagctacccctcaccttcggccccggcacc aaggtggagatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctg aataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggac agcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgccc gtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt (**서열번호: 77**).

[0190] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기 서열번호: 78에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 핵산 서열을 포함한다:

[0191] gacatcgtgatgacccagagccctagcttttaagcgccagcgtgggcgacagagtgaccatcacttgtcgtgccagccaaggtatcagcagctatttagct tggtaccagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctacgccgccagcactttacagagcggagtgcctagcagattcagcggcagcggctccggc accgagttcactttaaccatcagctctttacagcccgaggacttcgccacctactactgccagcagctgaacagctacccctcaccttcggccccggcacc aaggtggacatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctg aataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggac agcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgccc

gtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt (**서열번호: 78**).

[0192] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 5, 10 및 13에 대해 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 항체를 암호화하는 핵산 서열을 포함한다.

[0193] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 경쇄는 3개의 LCDR을 포함하며, 여기서,

[0194] LCDR1은 RASQGIX$_1$X$_2$YLA(서열번호: 79)를 포함하고/하거나,

[0195] LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)를 포함하고/하거나

[0196] LCDR3은 QQLX$_3$SYPX$_4$T(서열번호: 80)를 포함하고;

[0197] 여기서 X$_1$은 S 또는 N으로부터 선택되고/되거나;

[0198] X$_2$는 S 또는 N으로부터 선택되고/되거나;

[0199] X$_3$은 N 또는 K로부터 선택되는 하전된 아미노산이고/이거나;

[0200] X$_4$는 F 또는 W로부터 선택되는 소수성 아미노산이다.

[0201] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 임의의 이러한 경쇄 CDR 서열은 본원에 개시되거나 당업계에 공지된 임의의 형식의 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 존재할 수 있는 바와 같이, 본원에 개시되거나 당업계에 공지된 임의의 프레임워크 영역, CDR, 또는 불변 도메인, 또는 이의 부분을 포함하는 본원에 제공되거나 당업계에 공지된 임의의 다른 항체 서열 또는 도메인과, 예를 들어, 분자 생물학 기술에 의해, 용이하게 조합될 수 있다.

[0202] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 임의의 경쇄 불변 도메인 서열, 예를 들어, 당업자에게 공지된 경쇄의 불변 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 당업자가 인식할 바와 같이, 경쇄 불변 도메인은 카파 경쇄 불변 도메인 또는 람다 경쇄 불변 도메인일 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 경쇄의 불변 도메인은 카파 경쇄 불변 도메인이다. 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0203] **예시적인 항체**

[0204] 조작된 항체는 본원에 기재된 다양한 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 2개의 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 중쇄 및/또는 경쇄, 본원에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 중쇄 및/또는 경쇄 프레임워크 도메인, 본원에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 중쇄 및/또는 경쇄 CDR 도메인, 및/또는 본원에 개시된 바와 같은 임의의 중쇄 및/또는 경쇄 불변 도메인을 포함하는 항체를 포괄한다.

[0205] 일부 구현예에서, 조작된 항체는 서열번호: 1에 대해 동일한 면역글로불린 VH 아미노산 서열 및 서열번호: 13에 대해 동일한 면역글로불린 VL 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 13에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 VL 영역; 및 서열번호: 1에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 VH 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 1 및/또는 서열번호: 13에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 및/또는 VL 아미노산 서열을 포함하는 한편, 본원에 기재된 vH CDR1, vHCDR2, vHCDR3, vLCDR1, vLCDR2 및/또는 vLCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0206] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 공통 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기 vHCDR 및 vLCDR 서열을 포함한다:

[0207] vHCDR1: SYAIH(서열번호: 2)

[0208] vHCDR2: VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)

[0209] vHCDR3: AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)

[0210] vLCDR1: RASQGISSYLA(서열번호: 11)

[0211] vLCDR2: AASTLQS(서열번호: 7)

[0212] vLCDR3: QQLNSYPWT(서열번호: 14).

[0213] 특정 구현예에서, CDR은 Kabat 넘버링 시스템에 따라 식별된다.

[0214] 일부 구현예에서, 조작된 항체는 서열번호: 1에 대해 동일한 면역글로불린 VH 아미노산 서열 및 서열번호: 5에 대해 동일한 면역글로불린 VL 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 5에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 VL 영역; 및 서열번호: 1에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 VH 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 5 및/또는 서열번호: 1에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 및/또는 VL 아미노산 서열을 포함하는 한편, 본원에 기재된 vH CDR1, vHCDR2, vHCDR3, vLCDR1, vLCDR2 및/또는 vLCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0215] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 공통 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기 vHCDR 및 vLCDR 서열을 포함한다:

[0216] vHCDR1: SYAIH(서열번호: 2)

[0217] vHCDR2: VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)

[0218] vHCDR3: AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)

[0219] vLCDR1: RASQGINNYLA(서열번호: 6)

[0220] vLCDR2: AASTLQS(서열번호: 7)

[0221] vLCDR3: QQLKSYPFT(서열번호: 8).

[0222] 특정 구현예에서, CDR은 Kabat 넘버링 시스템에 따라 식별된다.

[0223] 일부 구현예에서, 조작된 항체는 서열번호: 9에 대해 동일한 면역글로불린 VH 아미노산 서열 및 서열번호: 10에 대해 동일한 면역글로불린 VL 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 10에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 VL 영역; 및 서열번호: 9에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 면역글로불린 VH 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 서열번호: 9 및/또는 서열번호: 10에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 VH 및/또는 VL 아미노산 서열을 포함하는 한편, 본원에 기재된 vH CDR1, vHCDR2, vHCDR3, vLCDR1, vLCDR2 및/또는 vLCDR3 서열 중 하나 이상을 또한 포함한다.

[0224] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 공통 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 하기 vHCDR 및 vLCDR 서열을 포함한다:

[0225] vHCDR1: SYAIH(서열번호: 2)

[0226] vHCDR2: VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)

[0227] vHCDR3: AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)

[0228] vLCDR1: RASQGISSYLA(서열번호: 11)

[0229] vLCDR2: AASTLQS(서열번호: 7)

[0230] vLCDR3: QQLNSYPFT(서열번호: 12).

[0231] 특정 구현예에서, CDR은 Kabat 넘버링 시스템에 따라 식별된다.

[0232] **예시적인 단일 사슬 가변 단편**

[0233] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 단일-사슬 가변 단편을 제공한다. 일부 구현예에서, scFv는 인간 scFv이다. "단일-사슬 가변 단편" 또는 "scFv"는 V_H::VL 이종이량체를 형성하기 위해 공유적으로 연결된 면역글로불린(예를 들어, 마우스 또는 인간)의 중쇄(V_H) 및 경쇄(V_L)의 가변 영역의 융합 단백질을 지칭한다. 중쇄(V_H) 및 경쇄(V_L)는 직접적으로 연결되거나 펩티드-암호화 링커(예를 들어, 10, 15, 20, 25개의 아미노산)에 의해 연결되며, 이는 V_H의 N-말단과 V_L의 C-말단, 또는 V_H의 C-말단과 V_L의 N-말단을 연결한다. 링커는 일반적으로 가요성을 위해 글리신이 풍부할 뿐만 아니라 용해성을 위해 세린 또는 트레오닌이 풍부하다. 링커는 세포외 항원 결합 도메

인의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 연결할 수 있다. 링커의 비-제한적인 예는 Shen 등, Anal. Chem. 80(6):1910-1917 (2008) 및 WO 2014/087010에 개시되어 있고, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 특정 구현예에서, 링커는 G4S 링커이다.

[0234] 대안적으로 또는 추가적으로, scFv는 (항체 대신에, 예를 들어, Fab 라이브러리로부터 수득된) Fab로부터 유래될 수 있다. 특정 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 Fab이다. 특정 구현예에서, Fab는 가교된다. 특정 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 $F(ab)_2$이다. 임의의 상기 분자는 이종 서열과 융합 단백질에 포함되어 항-BCMA 항원 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 형성할 수 있다.

[0235] 특정 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 적어도 약 1×10^{-12} M, 적어도 약 1×10^{-7} M, 적어도 약 1×10^{-8} M, 적어도 약 1×10^{-9} M, 또는 적어도 약 1×10^{-10} M의 해리 상수(K_d)로 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 결합한다. 특정 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 적어도 약 2×10^{-8} M의 해리 상수(K_D)로 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 결합한다. 특정 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 약 $2 \times {}^{10-8}$ M 내지 약 8×10^{-9} M의 해리 상수(K_D)로 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 결합한다.

[0236] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 약 1 nM 내지 50 nM, 약 5 nM 내지 30 nM, 약 5 nM 내지 25 nM, 또는 약 8 nM 내지 20 nM의 해리 상수(K_D)로 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 적어도 약 50 nM, 적어도 약 40 nM, 적어도 약 35 nM, 적어도 약 30 nM, 적어도 약 25 nM, 적어도 약 20 nM, 적어도 약 19 nM, 적어도 약 18 nM, 적어도 약 17 nM, 적어도 약 16 nM, 적어도 약 15 nM, 적어도 약 14 nM, 적어도 약 13 nM, 적어도 약 12 nM, 적어도 약 11 nM, 적어도 약 10 nM, 적어도 약 9 nM, 적어도 약 8 nM, 적어도 약 7 nM, 적어도 약 6 nM, 적어도 약 5 nM의 해리 상수(K_D)로 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 결합한다.

[0237] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 서열번호: 1-4를 포함하는 가변 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 표 1에 제공된 하나 이상의 CDR 서열을 포함하는 가변 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 표 2에 제공된 하나 이상의 경쇄 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.

[0238] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 하기 제공된 서열번호: 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 링커를 포함한다:

[0239] GGGGSGGGGSGGGGS(**서열번호: 15**). 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 하기 제공된 서열번호: 81에 제시된 핵산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 링커를 포함한다:

[0240] ggaggggggcggtagcggaggggggaggatctgggggtgggggctcc (**서열번호: 81**).

[0241] 일부 구현예에서, 링커는 하기 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0242] GGGGSGGGGSGGGSGGGGS (**서열번호: 16**).

[0243] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 하기 제공된 서열번호: 82에 제시된 핵산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 링커를 포함한다:

[0244] gggggggggggggagcggaggggggggggagtggtgggggtcaggaggggggaggaagt (**서열번호: 82**).

[0245] 일부 구현예에서, 링커는 하기 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0246] GGGGSGGGGSGGGGSGGGSGGGGS (**서열번호: 17**).

[0247] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 하기 제공된 서열번호: 83에 제시된 핵산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 링커를 포함한다:

[0248] gggggaggggggatcaggaggcggtgggagcgggggaggtggatccggtggagggtcaggaggtggagggtcc (**서열번호: 83**).

[0249] 일부 구현예에서, 링커는 하기 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0250] GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (**서열번호: 18**).

[0251] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 하기 제공된 서열번호: 84에 제시된 핵산 서열을 포함하거나 이로 이루어진

링커를 포함한다:

[0252] ggtggtggcggcagcggcggcggcggtagcggtggcggcggttctggaggaggaggcagcggtggaggaagcggaggtggaggctcc (**서열번호: 84**).

[0253] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 보존적 서열 변형(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편)을 포함한다. 일부 구현예에서, 보존적 서열 변형은 아미노산 서열을 포함하는 본원에 개시된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 항체 또는 이의 단편)의 결합 특징에 유의하게 영향을 미치지 않거나 변경시키지 않는 아미노산 변형이다. 보존적 변형은 아미노산 치환, 부가 및 결실을 포함할 수 있다. 변형은 부위-지정 돌연변이유발 및 PCR-매개 돌연변이유발과 같은 당업계에 공지된 표준 기술에 의해 항-BCMA 항체 또는 이의 단편에 도입될 수 있다. 아미노산은 하전 및 극성과 같은 이들 물리화학적 특성에 따라서 군으로서 분류될 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 동일한 군 내의 아미노산으로 치환된 것이다. 예를 들어, 아미노산은 전하에 의해 분류될 수 있다: 양으로 하전된 아미노산은 리신, 아르기닌, 히스티딘을 포함하고, 음으로 하전된 아미노산은 아스파르트산, 글루탐산을 포함하고, 중성 하전된 아미노산은 알라닌, 아스파라긴, 시스테인, 글루타민, 글리신, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린을 포함한다. 또한, 극성 아미노산은 극성에 의해 분류될 수 있다: 극성 아미노산은 아르기닌(염기성 극성), 아스파라긴, 아스파르트산(산성 극성), 글루탐산(산성 극성), 글루타민, 히스티딘(염기성 극성), 리신(염기성 극성), 세린, 트레오닌, 및 티로신을 포함하고; 비-극성 아미노산은 알라닌, 시스테인, 글리신, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 및 발린을 포함한다. 따라서, CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산 잔기는 동일한 군으로부터의 다른 아미노산 잔기로 대체될 수 있고, 변경된 항체는 보유된 기능에 대해 테스트될 수 있다. 특정 구현예에서, 명시된 서열 또는 CDR 영역 내의 1개 이하, 2개 이하, 3개 이하, 4개 이하, 5개 이하의 잔기가 변경된다.

[0254] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0255] EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFG
EPQYFQHWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPFTFGPGTKVDIK (**서열번호: 85**).

[0256] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0257] QITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFG
EPQYFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGINNYLAWYQQKPGIAPKLLIYAASTLQSGVPSRFGGSGSGT
EFTLTISSLQPEDFATYYCQQLKSYPFTFGPGTKVEIK (**서열번호: 86**).

[0258] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0259] QITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFG
EPQYFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPWTFGQGTKVDIK (**서열번호: 87**).

[0260] 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 서열번호: 51-53 중 임의의 것에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 각각의 가변 영역을 포함하면서 서열번호: 51-53 중 임의의 것에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항-BCMA scFv는 각각의 CDR 영역을 포함하면서 서열번호: 51-53 중 임의의 것에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0261] **뉴클레오티드 서열**

[0262] 본 개시내용은 하나 이상의 중쇄, 중쇄 가변 도메인, 중쇄 프레임워크 영역, 중쇄 CDR, 중쇄 불변 도메인, 경쇄, 경쇄 가변 도메인, 경쇄 프레임워크 영역, 경쇄 CDR, 경쇄 불변 도메인, 또는 기타 면역글로불린-유사 서열, 또는 본원에 개시된 항체를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 뉴클레오티드 서열은 포유류 발현을 위해 코돈-최적화된다. 다양한 구현예에서, 이러한 뉴클레오티드 서열은 벡터에 존재할 수 있다. 다양한 구현예에서, 이러한 뉴클레오티드는 세포, 예를 들어 치료를 필요로 하는 대상체의 세포 또는 항체 생산을 위한 세포, 예를 들어 항체 생산을 위한 포유류 세포의 게놈에 존재할 수 있다.

[0263] **조작된 항체 및 융합 단백질**

[0264] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 (i) 본원에 기재된 하나 이상의 항원-결합 영역(예를 들어, 면역글로불린, 중쇄 항체, 경쇄 항체, LRR-기반 항체의 항원-결합 영역, 또는 항체-유사 특성을 갖는 기타 단백질 스캐폴드, 뿐만 아니라 당업계에 공지된 기타 항원 결합 모이어티, 이는 예를 들어 Fab, Fab', Fab'2, Fab_2, Fab_3, $F(ab')_2$, Fd, Fv, Feb, scFv, SMIP, 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디, 맥시바디, tandab, DVD, BiTe, TandAb 등을 포함함), 예를 들어 본원에 기재된 하나 이상의 가변 도메인, 또는 이의 부분(예를 들어, 본원에 기재된 하나 이상의 CDR), 및 (ii) 하나 이상의 추가 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 예를 들어, 알부민은 FcRn과의 상호작용에 의해 매개되는 pH-의존성 재순환에 의한 분해로부터 보호되는 풍부한 혈청 단백질이다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 가변 도메인 또는 조작된 항체, 또는 이의 부분(예를 들어, 본원에 기재된 하나 이상의 CDR)는 알부민, 이의 부분(예컨대 FcRn에 결합하는 알부민의 부분), 및/또는 개선된 친화도를 갖는 FcRn에 결합하는 알부민의 조작된 변이체에 융합된다. 다른 경우에, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 가변 도메인 또는 조작된 항체, 또는 이의 부분(예를 들어, 본원에 기재된 하나 이상의 CDR)는 알부민에 결합하는 폴리펩티드에 융합되어 융합 단백질-알부민 복합체를 형성하고, 이는 결국 FcRn에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 알부민에 결합하는 폴리펩티드는 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. 알부민 또는 이의 부분은 FcRn에 대한 이의 결합을 변형시킬 수 있는 하나 이상의 아미노산의 돌연변이를 포함할 수 있다. 이러한 돌연변이는 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, Andersen 등, *Nature Communications* 3:610 doi: 10.1038/nocmms1607 (2012) 참조). 다른 경우에, 본원에 기재된 하나 이상의 가변 도메인 또는 조작된 항체, 또는 이의 부분(예를 들어, 본원에 기재된 하나 이상의 CDR)가 트랜스페린에 융합된다. 트랜스페린은 트랜스페린 수용체에 결합함으로써 재순환된다(예를 들어, Widera 등, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55:1439-66 (2003) 참조).

[0265] *키메라 항원 수용체(CAR)*

[0266] 일부 예에서, BCMA 항체는 또한 종양 항원-특이적 CAR(키메라 항원 수용체, 인공 T 세포 수용체로도 공지됨) 또는 키메라 면역수용체) 및/또는 CAR을 발현하도록 조작된 세포독성 T 림프구(CTL)와 같은 항원-특이성과 조합하여 사용될 수 있다. 일반적으로, CAR은 결합 모이어티, 세포외 힌지 및 스페이서 요소, 막횡단 영역 및 신호전달 기능을 수행하는 엔도도메인을 포함한다(Cartellieri 등, *Biomed Biotechnol* 2010:956304, 2010). 많은 경우에, 결합 모이어티는 scFv와 같은 모노클로날 항체의 항원 결합 단편이거나, 또는 단일-도메인 항체이다. 여러 상이한 엔도도메인이 CAR을 생성하는 데 사용되었다. 예를 들어, 엔도도메인은 IT AM, 예컨대 CD3ζ 또는 FcRIγ를 갖는 신호전달 사슬로 이루어질 수 있다. 일부 경우에, 엔도도메인은 CD28 및/또는 CD137과 같은 적어도 하나의 추가 공동자극 도메인의 세포내 부분을 추가로 포함한다.

[0267] 본 개시내용에 따른 BCMA 항체 및 이의 단편은 하나 이상의 관심 표적에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 결합 모이어티를 포함하도록 조작된다. scFv 또는 Fab와 같은 세포외 항원 결합 영역은 항원 특이도를 결정하는 CAR의 일부일 수 있다. 세포외 항원 결합 영역은 임의의 상보성 표적, 예컨대 BCMA에 결합할 수 있다. 본원에 개시된 임의의 구현예의 특정 양태에서, scFv와 같은 세포외 항원 결합 영역은 항원에 특이적인 경쇄 CDR을 포함할 수 있다. 경쇄 CDR은 CAR의 scFv 경쇄와 같은 항원 결합 단위의 상보성 결정 영역일 수 있다. BCMA 항체 및 이의 단편은 핵산(예를 들어, RNA 및 DNA), 단백질(예를 들어, 항체), 및 이들의 조합을 포괄한다.

[0268] CAR을 발현하는 CTL은 종양 세포와 같은 특이적 세포 유형을 표적화하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 종양-항원 특이적 모노클로날 항체는 항원-특이적 항체의 항원-결합 단편을 함유하는 CAR을 발현하는 CTL을 조작하여, 조작된 CTL을 종양 항원-발현 종양 세포에 표적화하는 데 사용될 수 있다. 조작된 T 세포는 이전에 일부 유형의 암에 대한 입양 요법을 위해 사용되어 왔다(예를 들어, Park 등, *Mol Ther* 15(4):825-833, 2007참조). CAR을 발현하는 CTL은 HLA가 제한되지 않고 이로 인해 표적 항원을 발현하는 종양을 갖는 임의의 환자에게 사용될 수 있기 때문에, CAR을 발현하는 T 세포의 사용은 표준 CTL-기반 면역요법보다 더욱 보편적이다.

[0269] *결합 모이어티로서의 항체 또는 이의 단편*

[0270] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편은 항-BCMA 항체이다. 일부 경우에, 본원에 기재된 하나 이상의 결합 모이어티는 항체, 이의 항원-결합 단편, 및/또는 이의 Fc 영역(또는 Fc 단편)이거나 이를 포함한다. IgG 항체의 기본 구조는 디술피드 결합에 의해 함께 연결된 2개의 동일한 경쇄 폴리펩티드 및 2개의 동일한 중쇄 폴리펩티드로 이루어진다. 각 사슬의 아미노 말단에 위치한 제1 도메인은 아미노산 서열이 가변적이며, 각 개별 항체에서 발견되는 항체 결합 특이도를 제공한다. 이들은 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL) 영역

으로 공지되어 있다. 각 사슬의 다른 도메인은 아미노산 서열에서 비교적 불변성이고 불변 중쇄(CH) 및 불변 경쇄(CL) 영역으로 공지되어 있다. IgG 항체의 경우, 경쇄는 하나의 가변 영역(VL) 및 하나의 불변 영역(CL)을 포함한다. IgG 중쇄는 가변 영역(VH), 제1 불변 영역(CH1), 힌지 영역, 제2 불변 영역(CH2), 및 제3 불변 영역(CH3)을 포함한다. IgE 및 IgM 항체에서, 중쇄는 추가 불변 영역(CH4)을 포함한다.

[0271] 항체는 예를 들어 모노클로날 항체, 재조합적으로 생산된 항체, 단일특이적 항체, 다중특이적 항체(이중특이적 항체 포함), 인간 항체, 조작된 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 면역글로불린, 합성 항체, 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄 분자를 포함하는 사량체 항체, 항체 경쇄 단량체, 항체 중쇄 단량체, 항체 경쇄 이량체, 항체 중쇄 이량체, 항체 경쇄-항체 중쇄 쌍, 인트라바디, 항체 융합체(때때로 본원에서 "항체 접합체"로 지칭됨), 이종접합체 항체, 단일 도메인 항체, 일가 항체, 단일 사슬 항체 또는 단일 사슬 Fv(scFv), 카멜화된(camelized) 항체, 애피바디(affybodies), Fab 단편, F(ab')2 단편, 디술피드-연결된 Fv(sdFv), 항-이디오타입(항-Id) 항체(예를 들어, 항-항-Id 항체 포함), 미니바디, 도메인 항체, 합성 항체(때때로 "항체 모방체"로 지칭됨), 및 상기 중 임의의 것의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항체는 폴리클로날 항체 집단을 지칭한다.

[0272] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "Fc 단편"은 Fc 수용체에 결합하는 것과 같은, 본원에 기재된 Fc 기능 및/또는 활성을 보유하는 Fc 영역의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 항체의 "항원 결합 단편"은 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 용어 항체의 "항원 결합 단편" 내에 포괄되는 결합 단편의 예는 Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편, Fd 단편, Fv 단편, scFv 단편, dAb 단편(Ward 등, (1989) *Nature* 341:544-546), 및 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 이들 항체 단편은 당업자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 수득할 수 있고, 단편은 온전한 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0273] 일부 양태에서, 본 발명은 인간 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역을 포함하는 인간 BCMA에 결합하는 항체 또는 이의 단편을 제공하며, 여기서 인간 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1, 인간 IgG2, 인간 IgG3, 또는 인간 IgG4의 Fc 영역을 포함하는 동형 변이체를 포함한다.

[0274] 추가 양태에서, 본 발명은 인간 BCMA에 결합하는 인간화 항체 또는 이의 단편을 제공하며, 여기서 항체는 모 항체의 아미노산 위치 324의 세린을 아스파라긴으로 대체하는 아미노산 치환 S324N을 포함하는 변이체 인간 IgG Fc 영역을 포함하는 반면, 변이체 인간 IgG Fc 영역을 포함하는 항체는 모 항체와 비교하여 개선된 보체 의존성 세포독성(CDC)을 나타낸다.

[0275] 항체 또는 단편은 항체를 합성하기 위해 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 생산될 수 있다(예를 들어, Harlow 등, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Brinkman 등, 1995, *J. Immunol. Methods* 182:41-50; WO 92/22324; WO 98/46645 참조). 키메라 항체는 예를 들어, Morrison, 1985, *Science* 229:1202에 기재된 방법을 사용하여 생산될 수 있고, 인간화 항체는 예를 들어, 미국 특허 번호 6,180,370에 기재된 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0276] 본원에 기재된 추가 조성물 및 방법은 예를 들어, Segal 등, *J. Immunol. Methods* 248:1-6 (2001); 및 Tutt 등, J. Immunol. 147: 60 (1991)에 기재된 바와 같은 이중특이적 항체 및 다가 항체이다.

[0277] *조작된 항원 결합 영역*

[0278] 일부 구현예에서, 결합 모이어티는 하나 이상의 표적(즉, 항원)에, 즉 차등 친화도로 결합하도록 조작된 항체(예를 들어, IgG 항체, 예를 들어, IgG1, IgG2, 또는 IgG3 항체), 또는 항원 결합 단편이거나 이를 포함한다. 예를 들어, 항체는 하나 이상의 항체 CDR 내 및/또는 항체 CDR 구조에 수반되는 위치에서 아미노산을 변형함으로써 (예를 들어, 부가, 결실, 또는 치환함으로써) 조작될 수 있다. 변형될 수 있는 항체의 예시적인 비-제한적인 부위는 다음을 포함한다(아미노산 위치는 Kabat 넘버링에 기반하여 표시된다(Kabat 등, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH)).

[0279] 일부 구현예에서, 이들 개시된 아미노산 중 하나 이상은 히스티딘, 아르기닌, 리신, 아스파르트산, 글루탐산, 세린, 트레오닌, 아스파라긴, 또는 글루타민으로 치환될 수 있다. 이론에 구속되기를 바라지 않지만, 이들 위치 중 하나 이상에서 아미노산을 히스티딘으로 치환하면 pH-의존성 항원-결합 특성을 갖는 항체를 생성할 수 있는 것으로 여겨진다. 일부 구현예에서, 비-히스티딘 잔기는 히스티딘 잔기로 치환된다. 일부 구현예에서, 히스티딘 잔기는 비-히스티딘 잔기로 치환된다. 추가 조작된 항원 결합 영역은 예를 들어, 미국 공보 번호 20110229489에

기재된 것들을 포함한다.

[0280] *조작된 불변 영역*

[0281] 일부 경우에, 결합 모이어티는 하나 이상의 Fc 수용체(예를 들어, FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIIIA, FcγRIIIB, FcγRIV, 또는 FcRn 수용체)에 결합하는 항체 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편이거나 이를 포함한다.

[0282] 일부 경우에, 결합 모이어티는 본원에 기재된 아미노산 잔기 중 하나 이상의 아미노산 부가, 결실, 또는 치환을 포함하도록 조작된 IgG 항체의 불변 영역, Fc 영역 또는 Fc 단편(예를 들어, 251-256, 285-290, 308-314, 385-389, 및 428-436(Kabat 넘버링(Kabat 등, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH))일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0283] *BCMA 항체 및 이의 단편의 생성 및 생산*

[0284] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 BCMA 항체는 인간화 마우스를 인간 BCMA로 면역화시킴으로써 생성된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편은 하나 이상의 결합 모이어티를 포함하도록 추가로 조작된다. 예를 들어, 참조 폴리펩티드(예를 들어, 치료적 항체 또는 치료적 융합 단백질)의 서열이 수득될 수 있고, 하나 이상의 아미노산 잔기가 부가, 결실, 또는 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 아미노산 잔기는 글리신, 알라닌, 세린, 시스테인, 페닐알라닌, 트립토판, 티로신, 프롤린, 히스티딘, 메티오닌, 류신, 이소류신, 아르기닌, 발린, 리신, 아스파르트산, 글루탐산, 트레오닌, 아스파라긴, 또는 글루타민으로 치환된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 아미노산을 포함하는 항체는 BCMA에 대한 항체의 결합을 향상시키는 치환이다.

[0285] 항체는 숙주 동물로부터 항체 및 항체 생산 세포를 먼저 단리하고, 유전자 서열을 수득하고, 유전자 서열을 사용하여 숙주 세포(예를 들어, CHO 세포)에서 항체를 재조합적으로 발현시킴으로써 재조합적으로 제조될 수 있다. 이용될 수 있는 또 다른 방법은 식물(예를 들어, 담배) 또는 트랜스제닉 우유에서 항체 서열을 발현시키는 것이다. 식물 또는 우유에서 항체를 재조합적으로 발현시키는 방법이 개시되어 있다. 예를 들어, Peeters, 등 Vaccine 19:2756, 2001; Lonberg, N. 및 D. Huszar *Int. Rev. Immunol* 13:65, 1995; 및 Pollock, 등, *J Immunol Methods* 231 :147, 1999를 참조한다. 항체의 유도체, 예를 들어 인간화, 단일 사슬 등을 제조하는 방법이 당업계에 공지되어 있다.

[0286] **결합 모이어티와 표적의 상호작용 측정**

[0287] 표적(예를 들어, BCMA 및/또는 FcRn)에 대한 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체)의 결합 특성은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 다음 방법 중 하나에 의해 측정될 수 있다: BIACORE 분석, 효소 연결 면역흡착 검정(ELISA), x-선 결정학, 서열 분석 및 돌연변이유발 스캐닝. 항체와 BCMA 및/또는 FcRn의 결합 상호작용은 표면 플라스몬 공명(SPR)을 사용하여 분석할 수 있다. SPR 또는 생체분자 상호작용 분석(BIA)은 상호작용 물질에 표지화하지 않고 실시간으로 생물-특이적 상호작용을 검출한다. BIA 칩의 결합 표면 (결합 이벤트를 나타냄)에서의 질량의 변화는 표면 근처의 광의 굴절률의 변경을 초래한다. 굴절률의 변화는 검출가능한 신호를 생성하며, 이는 생물학적 분자 사이의 실시간 반응의 표시로서 측정된다. SPR을 사용하는 방법은 예를 들어 미국 특허 번호 5,641,640; Raether (1988) Surface Plasmons Springer Verlag; Sjolander 및 Urbaniczky (1991) *Anal. Chem.* 63:2338-2345; Szabo 등 (1995) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 5:699-705 및 BIAcore International AB(Uppsala, Sweden)에 의해 제공되는 온라인 공급원에 기재되어 있다. 추가로, Sapidyne Instruments(Boise, Id.)로부터 이용가능한 KinExA®(동역학 배제 검정) 검정을 또한 사용할 수 있다.

[0288] SPR로부터의 정보를 사용하여 평형 해리 상수(K_D), 및 표적(예를 들어, BCMA 및/또는 FcRn에 대한 항-BCMA 항체)에 대한 결합 모이어티의 결합에 대한 K_{on} 및 K_{off}를 포함하는 동역학 파라미터의 정확하고 정량적인 측정을 제공할 수 있다. 이러한 데이터는 상이한 분자를 비교하는 데 사용될 수 있다. SPR의 정보를 또한 사용하여 구조-활성상관(structure-activity relationship; SAR)를 개발할 수 있다. 예를 들어 다양한 pH 수준에서 표적에 대한 특정 결합 모이어티의 동역학 및 평형 결합 매개변수를 평가할 수 있다. 주어진 위치에서 변이체 아미노산은 특정 pH 수준에서 특정 결합 파라미터, 예를 들어, 높은 친화도, 낮은 친화도, 및 느린 K_{off}와 상관되는 것으로 식별될 수 있다.

[0289] **II. CAR 구현예**

[0290] 또한, 본 개시내용은 BCMA CAR 작제물이 T 세포를 포함하는 다른 면역 세포에 적합할 수 있는 생물학과는 대조

적으로 NK 세포에 보다 관련된 하나 이상의 구성요소를 갖기 때문에 NK 세포에 사용하기에 보다 적합한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

[0291] 일부 구현예에서, 본 발명은 (i) BCMA(즉, "BCMA 결합제")에 대한 단일-사슬 가변 단편(scFv), (ii) 힌지 영역; (iii) 막횡단 도메인, 및 (iv) 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인, 예컨대 적어도 하나의 공동자극 도메인 및 활성화 도메인을 N-말단에서 C-말단으로 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR) 융합 단백질에 관한 것이다.

[0292] 특정 구현예에서, 본 개시내용은 BCMA를 발현하는 암 세포를 표적화하기 위한 NK 세포(예를 들어, 제대혈(CB)-유래 NK 세포)의 재프로그래밍에 관한 것이다. 본 개시내용은 힌지 영역, 특히 CD28 또는 IgG1 힌지 영역, 막횡단 도메인, 및 CD247(CD3ζ로도 공지됨) 및 CD28의 세포질 부분을 포함하는 신호전달 도메인에 융합된 상이한 BCMA scFv를 혼입하는 다수의 신규한 CAR 작제물을 제공한다. 대안적인 구현예에서, CD28 이외의 다른 공동자극 도메인(들)이 활용된다.

[0293] **BCMA 결합제**

[0294] 본 발명에 따른 적합한 BCMA 결합제는 BCMA에 특이적으로 결합하는 scFv일 수 있다. 전형적으로, scFv는 VH-링커-VL 또는 VL-링커-VH의 형태일 수 있다.

[0295] VH 및 VL 사슬을 연결하는 특정 링커가 활용될 수 있다. 링커 아미노산 서열의 일 예는 다음과 같다:

[0296] GGGGSGGGGSGGGGS(**서열번호: 15**) 또는, GGGGSGGGGSGGGSGGGGS(**서열번호: 16**) 또는, GGGGSGGGGSGGGGSGGGSGGGGS(**서열번호: 17**) 또는, GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(**서열번호: 18**) 또는, GGTGGTGGTGGTTCTGGTGGTGGTGGTTCTGGCGGCGGCGGCTCCGGTGGTGGTGGATCC(**서열번호: 24**). 일부 구현예에서, 링커는 서열번호: 15-18 및 24에 대해 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0297] 일부 구현예에서, 링커는 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(**서열번호: 16**)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0298] 일부 구현예에서, BCMA-CAR의 BCMA 결합제 영역은 가변 중쇄 영역(VH) 및 가변 경쇄 영역(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA 결합제는 VH 및 VL 영역 각각에 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR), 즉, HCDR1, HCDR2 및 HCDR3, 및 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR), 즉, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 함유한다.

[0299] 일부 구현예에서, HCDR1은 SYAIH(서열번호: 2)의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 VTWHDGSNKYYAESVMG(서열번호: 3)의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 AKFGEPQYFQH(서열번호: 4)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0300] 일부 구현예에서, LCDR1은 RASQGINNYLA(서열번호: 6)의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 QQLKSYPFT(서열번호: 8)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0301] 일부 구현예에서, LCDR1은 RASQGISSYLA(서열번호: 11)의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 QQLNSYPFT(서열번호: 12)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0302] 일부 구현예에서, LCDR1은 RASQGISSYLA(서열번호: 11)의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 AASTLQS(서열번호: 7)의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 QQLNSYPWT(서열번호: 14)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0303] 일부 구현예에서, BCMA 결합제의 중쇄 가변 영역 (VH)은 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0304] QITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTLVTVSS (**서열번호: 1**).

[0305] CDR 서열 이외의 임의의 위치에서의 임의의 아미노산 치환이 또 다른 아미노산, 예를 들어 보존적 아미노산 치환(본원에 정의된 바와 같음)으로 변화될 수 있는 것으로 고려된다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 1에 대해 70% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 1에 대해 75% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 1에 대해 80% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 1에 대해 85% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 1에 대해 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 1에 대해 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 1에 대해 99% 동일한 서열을 포함한다.

[0306] 일부 구현예에서, BCMA 결합제의 중쇄 가변 영역(VH)은 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0307] EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFG EPQYFQHWGQGTTVTVSS (**서열번호: 9**).

[0308] CDR 서열 이외의 임의의 위치에서의 임의의 아미노산 치환이 또 다른 아미노산, 예를 들어 보존적 아미노산 치환(본원에 정의된 바와 같음)으로 변화될 수 있는 것으로 고려된다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 9에 대해 70% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 9에 대해 75% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 9에 대해 80% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 9에 대해 85% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 9에 대해 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 9에 대해 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VH는 서열번호: 9에 대해 99% 동일한 서열을 포함한다.

[0309] 일부 구현예에서, BCMA-결합제는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0310] DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGINNYLAWYQQKPGIAPKLLIYAASTLQSGVPSRFGGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLKSYPFTFGPGT KVEIK (**서열번호: 5**).

[0311] CDR 서열 이외의 임의의 위치에서의 임의의 아미노산 치환이 또 다른 아미노산, 예를 들어 보존적 아미노산 치환(본원에 정의된 바와 같음)으로 변화될 수 있는 것으로 고려된다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 5에 대해 70% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 5에 대해 75% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 5에 대해 80% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 5에 대해 85% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 5에 대해 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 5에 대해 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 5에 대해 99% 동일한 서열을 포함한다.

[0312] 일부 구현예에서, CAR의 BCMA-결합 영역은 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0313] DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPFTFGPGT KVDIK (**서열번호: 10**).

[0314] CDR 서열 이외의 임의의 위치에서의 임의의 아미노산 치환이 또 다른 아미노산, 예를 들어 보존적 아미노산 치환(본원에 정의된 바와 같음)으로 변화될 수 있는 것으로 고려된다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 10에 대해 70% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 10에 대해 75% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 10에 대해 80% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 10에 대해 85% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 10에 대해 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 10에 대해 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 10에 대해 99% 동일한 서열을 포함한다.

[0315] 일부 구현예에서, CAR의 BCMA-결합 영역은 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0316] DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPWTFGQGT KVDIK (**서열번호: 13**).

[0317] CDR 서열 이외의 임의의 위치에서의 임의의 아미노산 치환이 또 다른 아미노산, 예를 들어 보존적 아미노산 치환(본원에 정의된 바와 같음)으로 변화될 수 있는 것으로 고려된다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 13에 대해 70% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 13에 대해 75% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 13에 대해 80% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 13에 대해 85% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 13에 대해 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 13에 대해 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, VL은 서열번호: 13에 대해 99% 동일한 서열을 포함한다.

[0318] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA-결합제는 서열번호: 1의 VH 및 서열번호: 5의 VL을 포함한다.

[0319] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 70% 동일한 VH 및 서열번호: 5에 대해 적어도 70% 동일한 VL을 포함한다.

[0320] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 75% 동일한 VH 및 서열번호: 5에 대해 적어도 75% 동일한 VL을 포함한다.

[0321] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 80% 동일한 VH 및 서열번호: 5에 대해 적어도 80% 동일한 VL을 포함한다.

[0322] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 90% 동일한 VH 및 서열번호: 5에 대해 적어도 90% 동일한 VL을 포함한다.

[0323] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 95% 동일한 VH 및 서열번호: 5에 대해 적어도 95% 동일한 VL을 포함한다.

[0324] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 97% 동일한 VH 및 서열번호: 5에 대해 적어도 97% 동일한 VL을 포함한다.

[0325] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 9에 대해 적어도 70% 동일한 VH 및 서열번호: 10에 대해 70% 동일한 VL을 포함한다.

[0326] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 9에 대해 적어도 75% 동일한 VH 및 서열번호: 10에 대해 적어도 75% 동일한 VL을 포함한다.

[0327] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 9에 대해 적어도 80% 동일한 VH 및 서열번호: 10에 대해 적어도 80% 동일한 VL을 포함한다.

[0328] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 9에 대해 적어도 90% 동일한 VH 및 서열번호: 10에 대해 90% 동일한 VL을 포함한다.

[0329] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 9에 대해 적어도 95% 동일한 VH 및 서열번호: 10에 대해 적어도95% 동일한 VL을 포함한다.

[0330] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 9에 대해 적어도 97% 동일한 VH 및 서열번호: 10에 대해 적어도 97% 동일한 VL을 포함한다.

[0331] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1의 VH 및 서열번호: 13의 VL을 포함한다.

[0332] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 70% 동일한 VH 및 서열번호: 13에 대해 적어도 70% 동일한 VL을 포함한다.

[0333] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 75% 동일한 VH 및 서열번호: 13에 대해 적어도 75% 동일한 VL을 포함한다.

[0334] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 80% 동일한 VH 및 서열번호: 13에 대해 적어도 80% 동일한 VL을 포함한다.

[0335] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 90% 동일한 VH 및 서열번호: 13에 대해 적어도 90% 동일한 VL을 포함한다.

[0336] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 95% 동일한 VH 및 서열번호: 13에 대해 적어도 95% 동일한 VL을 포함한다.

[0337] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체 내의 BCMA 결합제는 서열번호: 1에 대해 적어도 97% 동일한 VH 및 서열번호: 13에 대해 적어도 97% 동일한 VL을 포함한다.

[0338] 일부 구현예들, 구현예, 특정 구현예에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 약 1×10^{-7}M의 해리 상수(K_d)로 결합한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 분자는 K_d가 약 1×10^{-9}M 내지 약 5×10^{-9}M일 때 "높은 친화도"로 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 분자는 K_d가 1×10^{-10}M 내지 약 5×10^{-10}M일 때 "매우 높은 친화도"로 항원에 특이적으로 결합한다. 일 구현예에서, 항원 결합 분자는 10^{-9} M의 K_d를 갖는다. 일 구현예에서, 오프-레이트는 약 1×10^{-5} 미만이다. 다른 구현예에서, 항원 결합 분자는 약 1×10^{-7} M 내지 약 1×10^{-13} M의 K_d로

인간 BCMA에 결합한다. 또 다른 구현예에서, 항원 결합 분자는 약 1×10^{-10} M 내지 약 5×10^{-10} M의 K_d로 인간 BCMA에 결합한다.

[0339] 또 다른 특정 구현예에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 유사한 결합 조건 하에서 다른 단백질과 교차 반응하지 않는다. 또 다른 특정 구현예에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 비-BCMA 단백질과 교차 반응하지 않는다. 특정 구현예에서, 또 다른 미관련 항원보다 더 높은 친화도로 BCMA에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 예를 들어 방사선면역검정, 표면 플라스몬 공명, 또는 동역학 배제 검정에 의해 측정 시 또 다른 미관련 항원보다 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 이상의 친화도로 BCMA(예를 들어, 인간 BCMA)에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 미관련 비-BCMA 단백질에 대한 결합 정도는 예를 들어 방사선면역검정에 의해 측정 시 BCMA 단백질에 대한 항체의 결합의 10%, 15%, 또는 20% 미만이다.

[0340] 특정 구현예에서, BCMA의 또 다른 종보다 더 높은 친화도로 인간 BCMA에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 예를 들어, 방사선면역검정, 표면 플라스몬 공명, 또는 동역학 배제 검정에 의해 측정 시 또 다른 종의 BCMA보다 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 이상의 친화도로 인간 BCMA에 결합하는 항체 또는 이의 단편이 본원에 제공된다. 특정 구현예에서, 인간 BCMA에 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편은 예를 들어 방사선면역검정, 표면 플라즈몬 공명, 또는 동역학 배제 검정에 의해 측정 시 인간 BCMA 단백질에 대한 항체 또는 이의 단편의 결합의 10%, 15%, 또는 20% 미만으로 또 다른 종의 BCMA 단백질에 결합할 것이다.

[0341] **힌지 영역**

[0342] 특정 구현예에서, CAR 폴리펩티드는 항원 결합 도메인 및 막횡단 도메인을 연결하는 세포외 스페이서 도메인(힌지로도 지칭될 수 있음)을 포함한다. 힌지 도메인은 세포막으로부터 scFv의 분리를 제공하는 스페이서 및 NK 세포 활성화 또는 T-세포 활성화를 매개하는 세포내 신호전달 모듈이다. 세포외 스페이서 도메인은 인간 단백질로부터의 힌지를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 일 구현예에서, 힌지는 인간 Ig(면역글로불린) 힌지, 예를 들어 IgG4 힌지, 또는 CD8a 힌지, 폴리펩티드, 예컨대 Gly3, 또는 IgG의 CH1, CH2, 및/또는 CH3 도메인(예컨대 인간 IgG1 또는 IgG4)으로 제조된 인공 스페이서일 수 있다.

[0343] 특정 경우에, 세포외 스페이서 도메인은 (i) IgG4의 힌지, CH2 및 CH3 영역, (ii) IgG4의 힌지 영역, (iii) IgG4의 힌지 및 CH2, (iv) CD8-알파의 힌지 영역, (v) CD28의 힌지 영역, (vi) IgG1의 힌지, CH2 및 CH3 영역, (vii) IgG1의 힌지 영역을 포함할 수 있다.

[0344] 본 발명에 따르면, 특히 유용한 힌지는 CD28로부터 유래된다. 특정 구현예에서, CAR 폴리펩티드는 특정 CD28 힌지 아미노산 서열을 포함하거나 특정 CD28 힌지 핵산 서열에 의해 암호화된다. 예는 다음과 같다:

[0345] 예시적인 적합한 CD28 힌지는 다음 아미노산 서열을 함유한다:

[0346] RAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPKDPK (**서열번호: 36**).

[0347] 예시적인 적합한 CD28 힌지는 다음 핵산 서열에 의해 암호화된다:

[0348] cgggcggccgcaattgaagttatgtatcctcctccttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagcccaaagatcccaaa (**서열번호: 35**).

[0349] 예시적인 적합한 IgG 힌지는 다음 아미노산 서열을 함유한다:

[0350] RTVTVSSQDPAEPKSPDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPK (**서열번호: 37**).

[0351] 예시적인 적합한 IgG 힌지는 다음 핵산 서열을 함유한다:

[0352] cgtacggtcactgtctcttcacaggatcccgccgagcccaaatctcctgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaa

gggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcaaccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaaaaagatcccaaa (**서열번호: 38**).

[0353] **막횡단 도메인**

[0354] 막횡단은 세포내 신호전달 도메인을 CAR의 힌지 영역에 연결한다. 일부 구현예에서, CAR은 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 적합한 막횡단 도메인은 CD28, 4-1BB/CD137, CD8(예를 들어, CD8 알파), CD4, CD19, CD3 엡실론, CD45, CD5, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CTLA4, PD-1 또는 CD154의 막횡단 도메인이다. 예시적인 막횡단 도메인은 그 전문이 본원에 포함된 WO2020227446에 개시되어 있다.

[0355] 일부 구현예에서, 막횡단 도메인은 CD28 막횡단 도메인이다. 일부 구현예에서, 막횡단 도메인은 하기 아미노산 서열을 포함하는 CD28 막횡단 도메인이다:

[0356] FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV (**서열번호: 26**).

[0357] 일부 구현예에서, 막횡단은 하기 핵산 서열에 의해 암호화된다:

[0358] ttttgggtgctggtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtg (**서열번호: 27**).

[0359] **공동자극 도메인**

[0360] CAR은 하나 이상의 공동자극 도메인을 포함할 수 있다. 공동자극 신호는 세포 확장, 기능, 지속성 및 항종양 활성을 포함하는 강력한 키메라 항원 수용체(CAR)를 달성하기 위해 필요하다. 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 공동자극 영역은 CD28, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, 프로그래밍된 사멸-1(PD-1), 유도성 T 세포 공동자극자(ICOS), 림프구 기능-연관 항원-1(LFA-1(CD11a/CD18), CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD247, CD276(B7-H3), LIGHT(종양 괴사 인자 슈퍼패밀리 구성원 14; TNFSF1.4), NKG2C, Ig 알파(CD79a), Fc 감마 수용체, MHC 클래스 I 분자, TNF 수용체 단백질, 면역글로불린-유사 단백질, 사이토카인 수용체, 인테그린, 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM 단백질), 활성화 NK 세포 수용체, BTLA, 톨 리간드, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM(LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8알파, CD8베타, IL2R 감마, IL7R 알파, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(촉각), CEACAM1, CRT AM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CD100(SEMA4D), CD69, SLAMF6(NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, CD83과 특이적으로 결합하는 리간드, 또는 이들의 임의의 조합의 신호전달 영역이다.

[0361] 일부 구현예에서, 공동자극 도메인은 다음을 포함한다:

[0362] RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (**서열번호: 28**).

[0363] 일부 구현예에서, 공동자극 도메인은 다음에 의해 암호화된다:

[0364] aggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctatcgctca (**서열번호: 29**).

[0365] *활성화 도메인*

[0366] 본 발명에 따르면, CAR 작제물은 또한 활성화 도메인을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, CAR 폴리펩티드는 면역 세포 활성화 모이어티를 포함한다. 활성화 모이어티는 공동자극 모이어티와 함께 작용하여 NK 세포 활성화, 증식, 이펙터 기능의 획득 및 염증성 사이토카인 및 케모카인의 분비를 유도하는 하류 신호전달 캐스케이드를 활성화시킨다. 일부 구현예에서, 활성화 모이어티는 CD3ζ이다.

[0367] CD3ζ 아미노산 서열의 일 예는 다음과 같다:

[0368] RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (**서열번호: 30**).

[0369] CD3ζ 핵산 서열의 일 예는 다음과 같다:

[0370] cgcgtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgtttttggacaaaagacgtggccgggaccctgagatgggggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccctcgc (**서열번호: 31**).

[0371] **신호 펩티드**

[0372] 특정 구현예에서, CAR 폴리펩티드는 신호 펩티드를 포함한다. 신호 펩티드는 CAR 폴리펩티드의 엑토도메인의 일부이다. 일부 구현예에서, 엑토도메인은 세포질 외부에 있고 세포외 공간에 노출된 CAR 단백질의 일부이다. 신호 펩티드의 기능은 인식된 단백질 신호를 세포 소포체에 전달하는 것이다. 일부 구현예에서, 신호 펩티드는 중쇄 신호 펩티드, IL-15 신호 펩티드, CD8a 신호 펩티드, GMCSF-R 신호 펩티드로부터 선택될 수 있다.

[0373] 신호 펩티드 아미노산 서열의 일 예는 다음과 같다:

[0374] MEFGLSWLFLVAILKGVQC (**서열번호: 51**).

[0375] 신호 펩티드 핵산 서열의 일 예는 다음과 같다:

[0376] atggaattcggattgtcatggttgttcctcgtcgcaattctcaagggcgtgcagtgc (**서열번호: 52**).

[0377] 신호 펩티드 아미노산 서열의 일 예는 다음과 같다:

[0378] MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEA (**서열번호: 32**).

[0379] 신호 펩티드 핵산 서열의 일 예는 다음과 같다:

[0380] Atgcgcattagcaagccccacctgcggagcatcagcatccagtgctacctgtgcctgctgctgaacagccacttcctgaccgaggcc (**서열번호: 33**).

[0381] 일부 구현예에서, CAR은 절단 부위를 포함한다. 절단 부위의 일 예는 다음과 같다:

[0382] GPQCTNYALLKLAGDVESNPGP (**서열번호: 39**).

[0383] 일부 구현예에서, 절단 부위는 다음에 의해 암호화된다:

[0384] ggaccgcagtgtactaattatgctctcttgaaattggctggagatgttgagagcaatcccgggccc (**서열번호: 40**).

[0385] *사이토카인*

[0386] 일부 구현예에서, CAR 발현 세포에서 사이토카인의 발현은 이들의 항종양 효능을 개선시킨다. 일 구현예에서, 사이토카인은 CAR의 일부로서 발현된다. 또 다른 구현예에서, 사이토카인은 별도의 발현 시스템에서 발현된다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 IL-15, IL-12, IL-2, IL-18, IL-21, 또는 이들의 조합으로부터 선택될 수 있다. 일 구현예에서, 사이토카인은 성장 호르몬, 예컨대 인간 성장 호르몬, N-메티노일 인간 성장 호르몬, 및 소 성장 호르몬; 부갑상선 호르몬; 티록신; 인슐린; 프로인슐린; 릴랙신; 프로릴랙신; 당단백질 호르몬, 예컨대 여포 자극 호르몬(FSH), 갑상선 자극 호르몬(TSH), 및 황체형성 호르몬(LH); 간 성장 인자(HGF); 섬유아세포 성장 인자(FGF); 프로락틴; 태반 락토겐; 뮬러리안-억제 물질; 마우스 생식샘자극호르몬-연관 펩티드; 인히빈; 액티빈; 혈관 내피 성장 인자; 인테그린; 트롬보포이에틴(TPO); 신경 성장 인자(NGF), 예컨대 NGF-베타; 혈소판-성장 인자; 형질전환 성장 인자(TGF), 예컨대 TGF-알파 및 TGF-베타; 인슐린-유사 성장 인자-I 및 -II; 에리트로포이에틴(EPO); 골유도성 인자; 인터페론, 예컨대 인터페론-알파, -베타, 및 -감마; 콜로니 자극 인자(CSF), 예컨대 대식세포-CSF(M-CSF); 과립구-대식세포-CSF(GM-CSF); 및 과립구-CSF(G-CSF); 인터류킨(IL), 예컨대 IL-1, IL-1 알파, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-15, 종양 괴사 인자, 예컨대 TNFα 또는 TNF-베타; 및 LIF 및 키트 리간드(KL)를 포함하는 기타 폴리펩티드 인자로부터 선택된다.

[0387] 일 구현예에서, 사이토카인은 IL-15이다. 일 구현예에서, 사이토카인 IL-15 영역은 다음과 같은 아미노산 서열을 포함한다:

[0388] GIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (**서열번호: 23**).

[0389] IL-15 핵산 서열의 일 예는 다음과 같다:

[0390] ggcatccacgtgttcatcctgggctgcttcagcgccggactgcccaagaccgaggccaactgggtgaacgtgatcagcgacctgaagaagatcgaggacctg atccagagcatgcacatcgacgccaccctgtacaccgagagcgacgtgcaccccagctgcaaggtgaccgccatgaagtgctttctgctggaactgcaggtg atcagcctggaaagcggcgacgccagcatccacgacaccgtggagaacctgatcatcctggccaacaacagcctgagcagcaacggcaacgtgaccgagagc ggctgcaaagagtgcgaggaactggaagagaagaacatcaaagagtttctgcagagcttcgtgcacatcgtgcagatgttcatcaacaccagc (**서열번호: 34**).

[0391] 일부 구현예에서, 본 개시내용에 포괄되는 IL-15 폴리펩티드는 서열번호: 23, 또는 서열번호: 23에 대해 적어도 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 이상 %로 동일한 서열을 포함할 수 있다.

[0392] **자살 유전자**

[0393] 특정 구현예에서, 자살 유전자는 이의 사용을 제어하고 원하는 이벤트 및/또는 시간에 세포 요법의 종결을 허용하기 위해 임의의 종류의 세포 요법과 함께 활용된다. 자살 유전자는 필요할 때 형질도입된 세포에 대한 사멸을 도출하기 위해 형질도입된 세포에 이용된다. 본 개시내용에 포괄되는 벡터를 보유하도록 변형된 본 개시내용의 항원-표적화 세포는 하나 이상의 자살 유전자를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "자살 유전자"는 전구약물 또는 다른 제제의 투여 시, 유전자 생성물이 이의 숙주 세포를 사멸시키는 화합물로 전이되는 데 영향을 미치는 유전자로서 정의된다. 다른 구현예에서, 자살 유전자는, 원할 때, 자살 유전자 생성물을 표적화하는 제제(예컨대 항체)에 의해 표적화되는 유전자 생성물을 암호화한다. "자살 유전자 생성물"은 자살 유전자에 의해 암호화되는 단백질 또는 폴리펩티드를 기재한다.

[0394] 사용될 수 있는 자살 유전자/전구약물 조합물의 예는 헤르페스 심플렉스 바이러스-티미딘 키나아제(HSV-tk) 및 간사이클로비르, 아사이클로비르, 또는 FIAU; 산화환원효소 및 사이클로헥시미드; 사이토신 데아미나아제 및 5-플루오로사이토신; 티미딘 키나아제 티미딜레이트 키나아제(Tdk::Tmk) 및 AZT; 및 데옥시사이티딘 키나아제 및 사이토신 아라비노시드이다. 전구약물 6-메틸퓨린 데옥시리보시드를 독성 퓨린 6-메틸퓨린으로 전환시키는 소위 자살 유전자인 *이. 콜라이*(E.coli) 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라아제가 사용될 수 있다. 전구약물 요법에 사용되는 자살 유전자의 다른 예는 *이. 콜라이* 사이토신 데아미나아제 유전자 및 HSV 티미딘 키나아제 유전자이다.

[0395] 예시적인 자살 유전자는 또한 CD20, CD52, EGFRv3, 또는 유도성 카스파아제 9를 포함한다. 일 구현예에서, EGFR 변이체 III(EGFRv3)의 절단된 버전은 세툭시맙에 의해 제거될 수 있는 자살 항원으로서 사용될 수 있다. 본 개시내용에 사용될 수 있는 당업계에 공지된 추가의 자살 유전자는 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라아제(PNP), 시토크롬 p450 효소(CYP), 카르복시펩티다아제(CP), 카르복실에스테라아제(CE), 니트로리덕타아제(NTR), 구아닌 리보실트랜스퍼라아제(XGRTP), 글리코시다아제 효소, 메티오닌-α,γ-리아제(MET), 및 티미딘 포스포릴라아제(TP)를 포함한다.

[0396] 일부 구현예에서, 유도성 카스파아제 9(iC9)는 예시적인 자살 유전자로서 사용된다. 예시적인 iC9는, 예를 들어 Yagyu S, 등 Mol Ther. 2015 Sep;23(9):1475-85에 기재되어 있으며, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 일부 구현예에서, iCaspase9는 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0397] MSTESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTLFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAVRSSSRTPSDKPVAHVVANPQAEGQL QWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGQGCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEK GDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL (**서열번호: 25**).

[0398] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 26 kd TNFα의 절단불가능한 돌연변이체를 사용하여 종결되는 세포 요법을 제공하는 방법 및 조성물에 관한 것이다. TNFα 돌연변이체는 절단불가능하여 막 결합 및 비분비성이게 한다. 절단불가능한 TNFα 돌연변이체를 발현하는 세포는 예를 들어, 에타너셉트, 인플릭시맙, 또는 아달리루맙과 같이 현재 임상에 있는 FDA-승인된 TNFα 항체를 사용하는 것을 포함하는 선택적 결실을 위해 표적화될 수 있다. 돌연변이된 TNFα 폴리펩티드는 하나 이상의 치료적 전이유전자, 예컨대 CAR을 암호화하는 유전자와 공동 발현될 수 있다. 또한, TNF-α 돌연변이체 발현 세포는 막-결합 TNFα 단백질의 생물학적 활성에 의해 매개되는 종양 표적에 대해 우수한 활성을 갖는다.

[0399] 특정 구현예에서, 자살 유전자는 TNFα-전환 효소(TACE로도 지칭됨)와 같은 자연에서 TNF를 절단하는 표준 효소에 의해 절단불가능한 종양 괴사 인자(TNF)α 돌연변이체이다. 이와 같이, TNFα 돌연변이체는 특정 구현예에서 막-결합되고 비분비성이다. 본 개시내용에 사용된 TNFα 돌연변이체는 적어도 항체를 포함하는 돌연변이체에 결합하는 하나 이상의 제제에 의해 표적화되어, 제제가 세포의 표면 상의 TNFα 돌연변이체에 결합한 후, 세포가 사멸한다. 본 개시내용의 구현예는 TNFα 돌연변이체가 이를 발현하는 세포에 대한 마커로서 활용될 수 있게 한다.

[0400] 절단불가능한 TNFα 돌연변이체를 발현하는 세포는 예를 들어, 에타너셉트, 인플릭시맙 또는 아달리루맙과 같이 현재 임상에 있는 FDA-승인된 TNFα 항체를 사용하는 것을 포함하는 선택적 결실에 대해 표적화될 수 있다. 돌연변이된 TNFα 폴리펩티드는 세포에서 하나 이상의 치료적 전이유전자, 예컨대 BCMA-표적화 CAR을 포함하는 CAR을 암호화하는 유전자와 공동 발현될 수 있다. 또한, TNF-알파 돌연변이체 발현 세포는 막-결합 TNFα 단백질의 생물학적 활성에 의해 매개되는 종양 표적에 대해 우수한 활성을 갖는다.

[0401] 야생형 TNFα는 26kD 막횡단 형태 및 17kD 분비 구성요소를 갖는다. 일부 구현예에서, Perez el al(1990)에 기재된 TNFα 돌연변이가 본 개시내용에 활용될 수 있다. 특정 구현예에서, TNFα 돌연변이체는 위치 -3, -2, -1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 이들의 조합에서 각각의 아미노산의 결실을 포함한다. 특이적 조합은 위치 -3에서 13까지; -3에서 12까지; -3에서 11까지; -3에서 10까지; -3에서 9까지; -3에서 8까지; -3에서 7까지; -3에서 6까지; -3에서 5까지; -3에서 4까지; -3에서 3까지; -3에서 2까지; -3에서 1까지; -3에서 -1까지; -3에서-2까지; -2에서 13까지; -2에서 12까지; -2에서 11까지; -2에서 10까지; -2에서 9까지; -2에서 8까지; -2에서 7까지; -2에서 6까지; -2에서 5까지; -2에서 4까지; -2에서 3까지; -2에서 2까지; -2에서 1까지; -2에서 -1까지; -1에서 13까지; -1에서 12까지; -1에서 11까지; -1에서 10까지; -1에서 9까지; -1에서 8까지; -1에서 7까지; -1에서 6까지; -1에서 5까지; -1에서 4까지; -1에서 3까지; -1에서 2까지; -1에서 1까지; 1에서 13까지; 1에서 12까지; 1에서 11까지; 1에서 10까지; 1에서 9까지; 1에서 8까지; 1에서 7까지; 1에서 6까지; 1에서 5까지; 1에서 4까지; 1에서 3까지; 1부터 2까지; 등의 결실을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 개시내용의 TNF-알파 돌연변이체의 예는 적어도 17 kD TNF와 관련하여 다음을 포함한다: (1) Val1의 결실 및 Pro12의 결실; (2) Val13의 결실; (3) Val1의 결실 및 Val13의 결실; (4) Pro12에서 및 Val1까지의 결실 및 Val13의 결실(13aa 결실); (5) Ala-3에서 Val 13까지의 결실(16aa 결실).

[0402] TNFα 돌연변이체는 임의의 적합한 방법에 의해 생성될 수 있지만, 특정 구현예에서, 이들은 부위-지정 돌연변이유발에 의해 생성된다. 일부 경우에, TNFα 돌연변이체는 단백질을 절단불가능하게 하는 돌연변이 이외의 돌연변이를 가질 수 있다. 특정 경우에, TNFα 돌연변이체는 Val, Pro12, 및/또는 Val13 또는 이들 사이의 영역에서의 결실 이외의 1, 2, 3, 또는 그 이상의 돌연변이를 가질 수 있다. 돌연변이체를 비분비성이 되게 하는 것 이외의 돌연변이는 아미노산 치환, 결실, 부가, 역위 등 중 하나 이상일 수 있다. 추가의 돌연변이가 아미노산 치환인 경우에, 치환은 예를 들어 보존적 아미노산에 대한 것일 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 일부 경우에, 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 추가 아미노산이 단백질의 N-말단 및/또는 C-말단 단부에 존재할 수 있다. 일부 경우에, TNFα 돌연변이체는 (1) 돌연변이체가 비분비성이 되게 하는 하나 이상의 돌연변이; (2) 돌연변이체에 대한 외부 신호전달을 예방하는 하나 이상의 돌연변이; 및/또는 (3) TNF 수용체 1 및/또는 TNF 수용체 2에 대한 돌연변이체의 결합을 방해하는 하나 이상의 돌연변이를 갖는다.

[0403] 특정 구현예에서, TNFα 돌연변이체 폴리펩티드는 다음의 서열번호: 25에 대한 결실을 포함한다: 아미노산 잔기 1 및 아미노산 잔기 12; 아미노산 잔기 1 및 아미노산 잔기 13; 아미노산 잔기 1-12; 아미노산 잔기 1-13; 또는 아미노산 잔기 -1 내지 13.

[0404] 예시적인 TNFα 돌연변이체 폴리펩티드 서열, 돌연변이체 및 변이체는 WO2020106619 및 WO2021055349에 개시되어 있고, 이들은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0405] **예시적인 전장 BCMA-CAR 서열**

[0406] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다:

[0407] MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHM
NSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYA
ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPFTFGPGTKVDIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPKD
PKFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY
DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (**서열번호: 19**).

[0408] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 19에 대해 적어도 70% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 19에 대해 적어도 75% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 19에 대해 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 19에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 19에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 19에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 19에 대해 적어도 97% 동일한

아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 19에 대해 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0409] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기를 포함하는 핵산 서열을 포함한다:

[0410] atggaatttggactgtcatggctttttcttgtcgccatcctgaaaggggtacagtgtgaagtgcaactggtcgaatctgggggagacgttgtccagcccgggg
aggtctttgcggttgtcatgcgcagcttcaggttttactttctcttcatacgccatccattgggttcggcaagcgcctggtaagggactcgaatgggttgca
gtgacctggcatgacggatcaaacaagtattatgcagaatcagtaatgggcaggtttaccatttcacgcgacaatagcaaaaatacactttatttgcacatg
aattcactcagagccgaagataccggcgtctattattgcgccagagcaaaatttggggagccacagtacttccaacattggggacaaggcactaccgtcacc
gtgagttcaggcgggggggatcaggcggaggaggttcaggcggcggcggcagtgacatagtgatgactcagagtccttcatttttgagcgcaagtgttggg
gatagggtcactataacgtgtagagcatctcaaggcatttcttcatatttggcctggtatcaacagaaacctggaaaggccccaaagctccttatttacgct
gcatcaaccctgcaatctggcgtcccaagccgattctctgggtctggaagcggcacagaatttaccctgactatatcatctctccaacctgaagattttgcc
acctattattgtcagcaattgaattcataccgttcacattcggccctggaactaaagtcgacatcaagcgggcggccgcaattgaagttatgtatcctcct
ccttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagcccaaagat
cccaaattttgggtgctggtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagc
aggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctat
cgctcacgcgtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtac
gatgttttggacaaaagacgtggccgggaccctgagatgggggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataag
atggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacc
tacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccctcgctga (**서열번호: 42**).

[0411] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 42에 대해 적어도 70% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 42에 대해 적어도 75% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 42에 대해 적어도 80% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 42에 대해 적어도 85% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 42에 대해 적어도 90% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 42에 대해 적어도 95% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 42에 대해 적어도 97% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 42에 대해 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다.

[0412] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기 서열번호: 45를 포함하는, 링커 및 절단 펩티드를 통해 IL-15에 연결된다:

[0413] MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHM
NSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYA
ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPFTFGPGTKVDIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPKD
PKFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY
DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGPQCTNYALLKLAGDVESNPGP
MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLES
GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (**서열번호: 45**)

[0414] 서열번호: 45로 표시되는 IL-15에 연결된 BCMA-CAR은 때때로 본 명세서에서 BCMA28-1로 지칭된다. CD28 힌지가 IgG1 힌지로 대체되는 IL-15에 연결된 또 다른 BCMA-CAR은 본 명세서에서 때때로 BCMAIg1로 지칭된다.

[0415] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 45에 대해 적어도 70% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 45에 대해 적어도 75% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 45에 대해 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 45에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 45에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 45에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 45에 대해 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 45에 대해 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0416] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL-15는 하기를 포함한다:

[0417] atggaatttggactgtcatggctttttcttgtcgccatcctgaaaggggtacagtgtgaagtgcaactggtcgaatctgggggagacgttgtccagcccgggg
aggtctttgcggttgtcatgcgcagcttcaggttttactttctcttcatacgccatccattgggttcggcaagcgcctggtaagggactcgaatgggttgca
gtgacctggcatgacggatcaaacaagtattatgcagaatcagtaatgggcaggtttaccatttcacgcgacaatagcaaaaatacactttatttgcacatg

aattcactcagagccgaagataccggcgtctattattgcgccagagcaaaatttggggagccacagtacttccaacattggggacaaggcactaccgtcacc
gtgagttcaggcgggggggatcaggcggaggaggttcaggcggcggcggcagtgacatagtgatgactcagagtccttcatttttgagcgcaagtgttggg
gatagggtcactataacgtgtagagcatctcaaggcatttcttcatatttggcctggtatcaacagaaacctggaaaggccccaaagctccttatttacgct
gcatcaaccctgcaatctggcgtcccaagccgattctctgggtctggaagcggcacagaatttaccctgactatatcatctctccaacctgaagattttgcc
acctattattgtcagcaattgaattcatacccgttcacattcggccctggaactaaagtcgacatcaagcgggcggccgcaattgaagttatgtatcctcct
ccttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagcccaaagat
cccaaattttgggtgctggtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattatttctgggtgaggagtaagaggagc
aggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctat
cgctcacgcgtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtac
gatgttttggacaaaagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataag
atggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggccttttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacc
tacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccctcgcggaccgcagtgtactaattatgctctcttgaaattggctggagatgttgagagcaatcccgggccc
atgcgcattagcaagccccacctgcggagcatcagcatccagtgctacctgtgcctgctgctgaacagccacttcctgaccgaggccggcatccacgtgttc
atcctgggctgcttcagcgccggactgcccaagaccgaggccaactgggtgaacgtgatcagcgacctgaagaagatcgaggacctgatccagagcatgcac
atcgacgccaccctgtacaccgagagcgacgtgcaccccagctgcaaggtgaccgccatgaagtgctttctgctggaactgcaggtgatcagcctggaaagc
ggcgacgccagcatccacgacaccgtggagaacctgatcatcctggccaacaacagcctgagcagcaacggcaacgtgaccgagagcggctgcaaagagtgc
gaggaactggaagagaagaacatcaaagagtttctgcagagcttcgtgcacatcgtgcagatgttcatcaacaccagctga (**서열번호: 46**).

[0418] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 46에 대해 적어도 70% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 46에 대해 적어도 75% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 46에 대해 적어도 80% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 46에 대해 적어도 85% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 46에 대해 적어도 90% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 46에 대해 적어도 95% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 46에 대해 적어도 97% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 46에 대해 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다.

[0419] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다:

[0420] MEFGLSWLFLVAILKGVQCQITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHM
NSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGINNYLAWYQQKPGIAPKLLIYA
ASTLQSGVPSRFGGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLKSYPFTFGPGTKVEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPKD
PKFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY
DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (**서열번호: 20**).

[0421] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 20에 대해 적어도 70% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 20에 대해 적어도 75% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 20에 대해 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 20에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 20에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 20에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 20에 대해 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 20에 대해 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0422] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기를 포함하는 핵산 서열을 포함한다:

[0423] atggaattcgggctgtcctggcttttcttggtcgcaattcttaagggcgtccaatgtcagataactctgcgcgagtcaggaggagacgtggtgcaaccgggc
agatctctcaggctttcatgtgccgccagtggcttcacatttagctcttatgcaatacattgggtcaggcaggctcctggcaagggcttggaatgggtagcgg
gttacctggcatgatggatctaacaaatactacgccgagtctgttatgggtcgattcacaatttctcgagacaattcaaaaaacacactctacctgcatatg
aactcacttagagcagaggacactggtgtctattactgcgccagagcaaaattcggcgagccacagtatttccagcactggggacaaggaaccctcgtaaca
gtatctagtgggggcggagggtctggaggaggggggagcgggggaggcggctctgatattgttatgacccaatcaccatcttttctgagcgctagtgtcggc
gacagggttacaatcacatgccgagcaagccaaggaatcaacaattatctcgcatggtatcaacaaaaaccaggtatcgccccgaaacttcttatttacgca
gcatcaaccctgcaaagcggagttccttctagatttggtggcagcggctccgggactgaattcactcttactatttcctcccttcaacccgaagatttcgcc
acatattactgccagcagcttaagtcataccccttcacttttggcccaggaactaaagttgaaatcaaacgggcggccgcaattgaagttatgtatcctcct

ccttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagcccaaagat
cccaaattttgggtgctggtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagc
aggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctat
cgctcacgcgtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtac
gatgttttggacaaaagacgtggccgggaccctgagatgggggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataag
atggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacc
tacgacgcccttcacatgcaggccctgccccctcgctga (**서열번호: 43**).

[0424] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 43에 대해 적어도 70% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 43에 대해 적어도 75% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 43에 대해 적어도 80% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 43에 대해 적어도 85% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 43에 대해 적어도 90% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 43에 대해 적어도 95% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 43에 대해 적어도 97% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 43에 대해 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다.

[0425] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기 서열번호: 47을 포함하는, 링커 및 절단 펩티드를 통해 IL-15에 연결된다:

[0426] MEFGLSWLFLVAILKGVQCQITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHM
NSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGINNYLAWYQQKPGIAPKLLIYA
ASTLQSGVPSRFGGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLKSYPFTFGPGTKVEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPKD
PKFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY
DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGPQCTNYALLKLAGDVESNPGP
MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLES
GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (**서열번호: 47**).

[0427] 서열번호: 47로 표시되는 IL-15에 연결된 BCMA-CAR은 때때로 본 명세서에서 BCMA28-2로 지칭된다. CD28 힌지가 IgG1 힌지로 대체되는IL-15에 연결된 또 다른 BCMA-CAR은 본 명세서에서 때때로 BCMAIg2로 지칭된다.

[0428] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 47에 대해 적어도 70% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 47에 대해 적어도 75% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 47에 대해 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 47에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 47에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 47에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 47에 대해 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 47에 대해 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0429] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL-15는 하기를 포함한다:

[0430] atggaattcgggctgtcctggcttttcttggtcgcaattcttaagggcgtccaatgtcagataactctgcgcgagtcaggaggagacgtggtgcaaccgggc
agatctctcaggctttcatgtgccgccagtggcttcacatttagctcttatgcaatacattgggtcaggcaggctcctggcaagggcttggaatgggtagcg
gttacctggcatgatggatctaacaaatactacgccgagtctgttatgggtcgattcacaatttctcgagacaattcaaaaaacacactctacctgcatatg
aactcacttagagcagaggacactggtgtctattactgcgccagagcaaaattcggcgagccacagtatttccagcactggggacaaggaaccctcgtaaca
gtatctagtgggggcggagggtctggaggaggggggagcgggggaggcggctctgatattgttatgacccaatcaccatcttttctgagcgctagtgtcggc
gacagggttacaatcacatgccgagcaagccaaggaatcaacaattatctcgcatggtatcaacaaaaaccaggtatcgccccgaaacttcttatttacgca
gcatcaaccctgcaaagcggagttccttctagatttggtggcagcggctccgggactgaattcactcttactatttcctcccttcaacccgaagatttcgcc
acatattactgccagcagcttaagtcataccccttcacttttggcccaggaactaaagttgaaatcaaacgggcggccgcaattgaagttatgtatcctcct
ccttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagcccaaagat
cccaaattttgggtgctggtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagc
aggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctat
cgctcacgcgtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtac
gatgttttggacaaaagacgtggccgggaccctgagatgggggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataag
atggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacc
tacgacgcccttcacatgcaggccctgccccctcgcggaccgcagtgtactaattatgctctcttgaaattggctggagatgttgagagcaatcccgggccc

atgcgcattagcaagccccacctgcggagcatcagcatccagtgctacctgtgcctgctgctgaacagccacttcctgaccgaggccggcatccacgtgttc
atcctgggctgcttcagcgccggactgcccaagaccgaggccaactgggtgaacgtgatcagcgacctgaagaagatcgaggacctgatccagagcatgcac
atcgacgccaccctgtacaccgagagcgacgtgcaccccagctgcaaggtgaccgccatgaagtgctttctgctggaactgcaggtgatcagcctggaaagc
ggcgacgccagcatccacgacaccgtggagaacctgatcatcctggccaacaacagcctgagcagcaacggcaacgtgaccgagagcggctgcaaagagtgc
gaggaactggaagagaagaacatcaaagagtttctgcagagcttcgtgcacatcgtgcagatgttcatcaacaccagctga (**서열번호: 48**).

[0431] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 48에 대해 적어도 70% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 48에 대해 적어도 75% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 48에 대해 적어도 80% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 48에 대해 적어도 85% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 48에 대해 적어도 90% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 48에 대해 적어도 95% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 48에 대해 적어도 97% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 48에 대해 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다.

[0432] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다:

[0433] MEFGLSWLFLVAILKGVQCQITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHM
NSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYA
ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPWTFGQGTKVDIKRTVTVSSQDPAEPKSPDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKFW
VLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD
KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (**서열번호: 21**).

[0434] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 21에 대해 적어도 70% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 21에 대해 적어도 75% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 21에 대해 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 21에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 21에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 21에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 21에 대해 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 21에 대해 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0435] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기를 포함하는 핵산 서열을 포함한다:

[0436] atggaattcggattgtcatggttgttcctcgtcgcaattctcaagggcgtgcagtgccaaattactcttcgagagtccggcggagatgtggtacagccaggg
agaagcctgagactctcctgtgcagcaagcggatttacctttttcttcttacgctatccactgggttagacaggctcccggtaagggactggaatgggtcgca
gtaacatggcacgacggttcaaataagtactacgcagagtcagtcatgggaaggtttactatttcacgggacaattctaagaacacactctacctgcatatg
aactccctcagagctgaagacaccggcgtatattattgtgctagagctaaatttggagaaccacagtattttcaacactggggccaaggcacacttgtaacg
gtttcaagcggtggtgggggtctggcggaggaggtagtggaggtggaggctccgatatcgttatgacacaatcacccagcttcttgtcagcttctgttggt
gatcgggtaacaattacttgtcgcgcatctcagggtatcagttcatatctggcatggtatcagcaaaagcctggaaaagcccctaaacttctgatttacgcc
gcgagcacactgcaaagtggagttccgtcaagattctctggctctgggtccggtaccgaatttactttgactatcagctcactccaacctgaggatttcgcc
acgtactattgccaacagcttaactcctatccttggacatttggtcagggcactaaagttgatattaaacgtacggtcactgtctcttcacaggatcccgcc
gagcccaaatctcctgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggac
accctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggag
gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaag
gagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg
cccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatggg
caaccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcag
gggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaaaaagatcccaaattttgg
gtgctggtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagcaggctcctgcac
agtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctatcgctcacgcgtg
aagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggac

aaaagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccctcgctga (**서열번호: 44**).

[0437] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 44에 대해 적어도 70% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 44에 대해 적어도 75% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 44에 대해 적어도 80% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 44에 대해 적어도 85% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 44에 대해 적어도 90% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 44에 대해 적어도 95% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 44에 대해 적어도 97% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 44에 대해 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다.

[0438] 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 하기 서열번호: 49를 포함하는, 링커 및 절단 펩티드를 통해 IL-15에 연결된다:

[0439] MEFGLSWLFLVAILKGVQCQITLRESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAIHWVRQAPGKGLEWVAVTWHDGSNKYYAESVMGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTGVYYCARAKFGEPQYFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPWTFGQGTKVDIKRTVTVSSQDPAEPKSPDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGPQCTNYALLKLAGDVESNPGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (**서열번호: 49**).

[0440] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 49에 대해 적어도 70% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 49에 대해 적어도 75% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 49에 대해 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 49에 대해 적어도 85% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 49에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 49에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 49에 대해 적어도 97% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 49에 대해 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0441] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL-15는 하기를 포함한다:

[0442] atggaattcggattgtcatggttgttcctcgtcgcaattctcaagggcgtgcagtgccaaattactcttcgagagtccggcggagatgtggtacagccagggagaagcctgagactctcctgtgcagcaagcggatttacctttcttcttacgctatccactgggttagacaggctcccggtaagggactggaatgggtcgcagtaacatggcacgacggttcaaataagtactacgcagagtcagtcatgggaaggtttactatttcacgggacaattctaagaacacactctacctgcatatgaactccctcagagctgaagacaccggcgtatattattgtgctagagctaaatttggagaaccacagtattttcaacactggggccaaggcacacttgtaacggtttcaagcggtggtgggggtctggcggaggaggtagtggaggtggaggctccgatatcgttatgacacaatcacccagcttcttgtcagcttctgttggtgatcgggtaacaattacttgtcgcgcatctcagggtatcagttcatatctggcatggtatcagcaaaagcctggaaaagcccctaaacttctgatttacgccgcgagcacactgcaaagtggagttccgtcaagattctctggctctgggtccggtaccgaatttactttgactatcagctcactccaacctgaggatttcgccacgtactattgccaacagcttaactcctatccttggacatttggtcagggcactaaagttgatattaaacgtacggtcactgtctcttcacaggatcccgccgagcccaaatctcctgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcaaccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaaaaagatcccaaattttggtgctggtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctatcgctcacgcgtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggacaaaagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcc

tacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccctcgcggaccgcagtgtactaattatgctctcttgaaattggctggagatgttgagagcaatcccgggcccatgcgcattagcaagccccacctgcggagcatcagcatccagtgctacctgtgcctgctgctgaacagccacttcctgaccgaggccggcatccacgtgttcatcctgggctgcttcagcgccggactgcccaagaccgaggccaactgggtgaacgtgatcagcgacctgaagaagatcgaggacctgatccagagcatgcacatcgacgccacccctgtacaccgagagcgacgtgcaccccagctgcaaggtgaccgccatgaagtgctttctgctggaactgcaggtgatcagcctggaaagcggcgacgccagcatccacgacaccgtggagaacctgatcatcctggccaacaacagcctgagcagcaacggcaacgtgaccgagagcggctgcaaagagtgcgaggaactggaagagaagaacatcaaagagtttctgcagagcttcgtgcacatcgtgcagatgttcatcaacaccagctga (**서열번호: 50**).

[0443] 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 50에 대해 적어도 70% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 50에 대해 적어도 75% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR은 서열번호: 50에 대해 적어도 80% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 50에 대해 적어도 85% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 50에 대해 적어도 90% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 50에 대해 적어도 95% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 50에 대해 적어도 97% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, BCMA-CAR-IL15는 서열번호: 50에 대해 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다.

[0444] 본 개시내용의 구현예는 본원에 포괄된 바와 같은 하나 이상의 CAR 및 하나 이상의 자살 유전자를 발현하는 세포를 포괄한다. 특정 구현예에서, NK 세포는 하나 이상의 CAR 및 하나 이상의 조작된 비분비성, 막 결합 TNF-알파 돌연변이체 폴리펩티드를 암호화하는 재조합 핵산을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 CAR 및 TNF-알파 돌연변이체 폴리펩티드를 발현하는 것에 더하여, 세포는 또한 하나 이상의 치료적 유전자 생성물을 암호화하는 핵산을 포함한다.

[0445] **벡터**

[0446] 특정 양태에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 벡터는 DNA 벡터, RNA 벡터, 플라스미드, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, AAV 벡터, 또는 레트로바이러스 벡터로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 벡터는 바이러스 벡터일 수 있다. 바이러스 벡터의 예는 적어도 레트로바이러스, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 또는 아데노-연관 바이러스 벡터를 포함한다. 비-바이러스 벡터의 예는 적어도 플라스미드, 트랜스포존, 지질, 나노입자 등을 포함한다.

[0447] 면역 세포가 유전적으로 조작된 수용체를 암호화하는 벡터로 형질도입되고, 또한 또 다른 유전자 또는 유전자들, 예컨대 자살 유전자 및/또는 사이토카인 및/또는 선택적 치료적 유전자 생성물의 세포 내로의 형질도입을 필요로 하는 경우에, 항원-표적화 수용체, 자살 유전자, 사이토카인, 및 선택적 치료적 유전자는 동일한 벡터 상에 또는 동일한 벡터와 함께 포함될 수 있거나 포함되지 않을 수 있다. 일부 경우에, CAR, 자살 유전자, 사이토카인, 및 선택적 치료적 유전자는 동일한 벡터 분자, 예컨대 동일한 바이러스 벡터 분자로부터 발현된다. 이러한 경우에, CAR, 자살 유전자, 사이토카인, 및 선택적 치료적 유전자의 발현은 동일한 조절 요소(들)에 의해 조절될 수 있거나 조절되지 않을 수 있다. CAR, 자살 유전자, 사이토카인, 및 선택적 치료적 유전자가 동일한 벡터 상에 있는 경우, 이들은 별도의 폴리펩티드로서 발현되거나 발현되지 않을 수 있다. 이들이 별개의 폴리펩티드로서 발현되는 경우에, 이들은 예를 들어 2A 요소 또는 IRES 요소에 의해 벡터 상에서 분리될 수 있다(또는 둘 모두의 종류가 동일한 벡터 상에서 한번 또는 한번 초과로 사용될 수 있다).

[0448] 일부 구현예에서, 사이토카인 및 자살 유전자는 동일한 폴리펩티드로부터 발현되며, 여기서 이들은 2A 요소에 의해 분리된다. 일부 구현예에서, 2A 요소는 세포에서 단백질의 번역 동안 리보솜 스키핑(ribosomal skipping)을 유도할 수 있다.

[0449] 일부 구현예에서, 2A 요소는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (**서열번호: 53**)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0450] **세포**

[0451] 본 개시내용은 CD28 힌지 도메인을 포함하는 BCMA CAR을 포함하는 유전적으로 조작된 수용체를 암호화하는 적어도 하나의 벡터를 보유하는 임의의 종류의 면역 세포 또는 줄기 세포를 포괄한다. 일부 경우에, 상이한 벡터가 CAR을 암호화하고 자살 유전자 및/또는 사이토카인을 암호화한다. NK 세포를 포함하는 면역 세포는 제대혈(다중 공급원으로부터의 혼주 제대혈 포함), 말초 혈액, 유도 만능 줄기 세포(iPSC), 조혈 줄기 세포 (HSC), 골수, 또는 이들의 혼합물로부터 유래될 수 있다. NK 세포는, 예를 들어, NK-92 세포 등과 같은 세포주로부터 유래될 수

있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. NK 세포는 제대혈 단핵 세포, 예컨대, $CD56^+$ NK 세포일 수 있다.

[0452] 본 개시내용은 면역 또는 임의의 종류의 다른 세포를 포괄하며, 이는 통상적인 T 세포, 감마-델타 T 세포, NKT 및 불변 NK T 세포, 조절 T 세포, 대식세포, B 세포, 수지상 세포, 중간엽 간질 세포(MSC), 또는 이들의 혼합물을 포함한다.

[0453] NK 세포는 선천성 면역 반응의 중요한 구성요소이며 악성 세포에 대한 제1 방어선에서 중요한 역할을 한다. NK 세포가 사전 감작없이 악성 세포를 사멸시키는 능력은 HLA 분자의 맥락에서 제시되는 종양 항원의 인식을 필요로 하는 T 세포와 달리 이의 신속한 작용에 기여한다.

[0454] 일부 경우에, NK 세포는 임의의 적합한 비율을 포함하여, 유효량의 범용 항원 제시 세포(UAPC)의 존재 하에 확장되었다. 세포는 UAPC와 함께 예를 들어 1:2의 비율을 포함하여, 10:1 내지 1:10; 9:1 내지 1:9; 8:1 내지 1:8; 7:1 내지 1:7; 6:1 내지 1:6; 5:1 내지 1:5; 4:1 내지 1:4; 3:1 내지 1:3; 2:1 내지 1:2; 또는 1:1의 비율로 배양될 수 있다. 일부 경우에, NK 세포를 IL-2의 존재 하에, 예컨대 10-500, 10-400, 10-300, 10-200, 10-100, 10-50, 100-500, 100-400, 100-300, 100-200, 200-500, 200-400, 200-300, 300-500, 300-400, 또는 400-500 U/mL의 농도로 확장시켰다.

[0455] 벡터(들)로의 유전적 변형 후에, NK 세포는 즉시 주입될 수 있거나 저장될 수 있다. 특정 양태에서, 유전적 변형 후에, 세포는 유전자 세포 내로 전달된 후 약 1, 2, 3, 4, 5일 이상 내에 벌크 집단으로서 *생체외*에서 수일, 수주, 또는 수개월 동안 증식될 수 있다. 추가의 양태에서, 형질감염체는 클로닝되고, 단일 통합 또는 에피솜적으로 유지된 발현 카세트 또는 플라스미드의 존재를 입증하는 클론이며, CAR의 발현은 *생체외*로 확장된다.

[0456] 본 개시내용의 구현예는 본원에 포괄된 바와 같은 하나 이상의 CAR 및 하나 이상의 자살 유전자를 발현하는 세포를 포함한다. 특정 구현예에서, NK 세포는 하나 이상의 CAR 및 하나 이상의 조작된 비분비성, 막 결합 TNF-알파 돌연변이체 폴리펩티드를 암호화하는 재조합 핵산을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 CAR 및 TNF-알파 돌연변이체 폴리펩티드를 발현하는 것에 더하여, 세포는 또한 하나 이상의 치료적 유전자 생성물을 암호화하는 핵산을 포함한다.

[0457] 세포는 개체로부터 직접적으로 수득될 수 있거나 보관소 또는 다른 저장 설비로부터 수득될 수 있다. 요법으로서의 세포는 세포가 요법으로서 제공되는 개체에 대해 자가 또는 동종이계일 수 있다.

[0458] 세포는 의학적 병태에 대한 요법을 필요로 하는 개체로부터 유래될 수 있고, CAR, 선택적 자살 유전자, 선택적 사이토카인(들), 및 선택적 치료적 유전자 생성물(들)을 발현하기 위한 이들의 조작 후에 (예를 들어, 입양 세포 요법에 대한 형질도입 및 확장을 위한 표준 기술을 사용하여), 이들이 원래 공급되었던 개체에게 다시 제공될 수 있다. 일부 경우에, 세포는 개체 또는 또 다른 개체에 대한 나중의 사용을 위해 저장된다.

[0459] 면역 세포는 세포의 집단에 포함될 수 있고, 그 집단은 대부분 하나 이상의 수용체 및/또는 하나 이상의 자살 유전자 및/또는 하나 이상의 사이토카인으로 형질도입될 수 있다. 세포 집단은 하나 이상의 CAR 및/또는 하나 이상의 자살 유전자 및/또는 하나 이상의 사이토카인으로 형질도입된 면역 세포의 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100%를 포함할 수 있다. 하나 이상의 CAR 및/또는 하나 이상의 자살 유전자 및/또는 하나 이상의 사이토카인은 별개의 폴리펩티드일 수 있다.

[0460] 면역 세포는 특정 목적에 대해 모듈 방식으로 될 목적으로 하나 이상의 CAR 및/또는 하나 이상의 자살 유전자 및/또는 하나 이상의 사이토카인으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 상업적 분포를 포함하여, CAR 및/또는 하나 이상의 자살 유전자 및/또는 하나 이상의 사이토카인을 발현하는 세포가 생성될 수 있고 (또는 후속 형질도입을 위해 돌연변이체를 암호화하는 핵산으로 분포됨), 사용자는 이들의 의도된 목적(들)에 의존하여 하나 이상의 다른 관심 유전자(치료적 유전자 포함)를 발현하도록 세포를 변형시킬 수 있다. 예를 들어, 항원-양성 암 또는 감염원-감염 세포를 포함하는 항원-양성 세포의 치료에 관심이 있는 개체는 자살 유전자-발현 세포(또는 이종 사이토카인-발현 세포)를 수득하거나 생성하고, 이들을 변형시켜 항원-특이적 scFv를 포함하는 수용체를 발현하거나, 또는 그 *반대*일 수 있다.

[0461] 특정 구현예에서, NK 세포가 활용되고, 하나 이상의 CAR 및/또는 하나 이상의 자살 유전자 및/또는 하나 이상의 사이토카인을 발현하는 형질도입된 NK 세포의 게놈이 변형될 수 있다. 게놈은 임의의 방식으로 변형될 수 있지만, 특정 구현예에서, 게놈은 예를 들어, CRISPR 유전자 편집에 의해 변형된다. 세포의 게놈은 임의의 목적으로든 세포의 유효성을 향상시키기 위해 변형될 수 있다.

[0462] 비-제한적인 예로서, NK 세포는 서열번호: 19-21, 45, 47 및 49로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 BCMA 결합 CAR을 발현할 수 있다. 일부 예에서, NK 세포는 서열번호: 42-44, 46, 48 및 50으로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0463] **III. 치료 방법**

[0464] 다양한 구현예에서, 원하는 표적을 이들의 표면 상에 발현하는 질환 또는 다른 세포는 의학적 병태를 갖는 개체에서 의학적 병태를 개선하기 위한 목적, 또는 개체에서 의학적 병태의 중증도 및/또는 발병을 지연시키거나 위험을 감소시키기 위한 목적으로 표적화된다. 특정 경우에, 내인성 항원을 발현하는 암세포는 암세포를 사멸시킬 목적으로 표적화된다. 다른 경우에, 감염원에 감염된 세포를 사멸시킬 목적으로 표적화된다.

[0465] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체)은 하나 이상의 BCMA-연관 병태를 치료하는 방법에 사용된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체)은 의약으로서 사용하기 위한 것이다. BCMA-연관 병태는 BCMA 발현에 의해 유발되거나, BCMA 발현으로부터 전체 또는 부분적으로 발생하는 증상을 포함하거나, BCMA 발현과 함께 발생하는 것으로 공지된 병태를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0466] 본 개시내용에 따르면, 본원에 기재된 항체, 이의 단편, 및 CAR 및 조성물은 BCMA 연관 암을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 암은 신체에서 비정상적인 세포의 미제어 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 광범위한 그룹이다. 미조절 세포 분열 및 성장은 주변 조직을 침범하고 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 먼 부위로 전이될 수 있는 악성 종양의 형성을 초래한다. 일부 구현예에서, "암" 또는 "암 조직"은 고형 종양을 포함한다. 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 암의 예는 림프종, 백혈병, 골수종, 및 다른 백혈구 악성 종양을 포함하는 면역계의 암을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0467] 일부 양태에서, 본 발명은 암을 치료하는 방법을 제공하며, 이는 BCMA에 결합하는 제제(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편)를 투여하는 단계를 포함한다.

[0468] 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편)의 투여는 대상체에서의 이전 측정치 또는 참조 값과 비교하여 본원에 기재된 바와 같은 또는 당업계에 달리 공지된 BCMA-연관 병태의 하나 이상의 증상 또는 바이오마커의 유병률, 빈도, 수준, 및/또는 양의 감소, 예를 들어 하나 이상의 증상 또는 바이오마커의 적어도 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%의 감소를 초래한다.

[0469] 일부 구현예에서, 암을 갖는 대상체로의 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체)의 투여는 참조 항체, 예를 들어, 비교 가능한 조건 하에서 BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체보다 암의 하나 이상의 증상 또는 바이오마커의 더 큰 감소 또는 개선을 초래한다.

[0470] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체)은 동등하거나, 동등하게 효과적이거나, 비교 가능하게 효과적이거나, 실질적으로 효과적인 결과를 달성하면서 참조 단백질, 예를 들어, BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체와 비교하여 감소된 투여량으로 투여될 수 있으며, 여기서 항-BCMA 항체는 참조(예를 들어, BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체)와 동일하거나, 동등하거나, 실질적으로 동등한 제형으로 그리고/또는 동일하거나, 동등하거나, 실질적으로 동등한 투여 경로에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 동등하게 효과적이거나, 동등하게 효과적이거나, 또는 실질적으로 효과적인 결과를 달성하면서 참조 항체(예를 들어, BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체)와 비교하여 증가된 간격으로 투여될 수 있으며, 여기서 항-BCMA 항체는 참조와 동일하거나, 동등하거나, 실질적으로 동등한 제형으로 그리고/또는 동일하거나, 동등하거나, 실질적으로 동등한 투여 경로에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 동일하거나, 동일하게 효과적이거나, 비교 가능하게 효과적이거나, 실질적으로 효과적인 결과를 달성하면서 참조 항체와 비교하여 감소된 수의 단위 투여량으로 그리고/또는 감소된 치료 기간 동안 투여될 수 있으며, 여기서 항-BCMA 항체는 참조(예를 들어, BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체)와 동일하거나, 동등하거나, 실질적으로 동등한 제형으로 그리고/또는 동일하거나, 동등하거나, 실질적으로 동등한 투여 경로에 의해 투여된다.

[0471] 일부 이러한 구현예에 따라, 본원에 기재된 항-BCMA 항체의 투여된 용량은 참조 항체, 예를 들어 BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체의 유효 용량보다 대상체에게 투여될 때 유해 반응, 예를 들어 유해 면역 반응을 유발할 가능성이 낮을 수 있다. 따라서, 다양한 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 항-BCMA 항체는 유해 반응 또는 부작용을 유도하기 위해 투여된 활성 단위당 참조 항체보다 낮을 가능성이 낮을 수 있다. 다양한

구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 항-BCMA 항체는 투여된 활성 단위당 참조 항체보다 특정 정도의 중증도를 갖는 유해 반응 또는 부작용을 유도할 가능성이 더 낮을 수 있다. 다양한 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 항-BCMA 항체는 투여된 활성 단위당 참조 항체보다 더 적은 정도로 또는 더 적은 환자에서 하나 이상의 유해 반응 또는 부작용을 유도할 수 있다. BCMA에 결합할 수 있는 항체의 투여와 연관된 유해 반응 또는 부작용의 예는 두통, 비인두염, 요통, 구역질, 설사, 고혈압, 상기도 감염, 복통, 구토, 빈혈, 기침, 말초 부종, 및/또는 요로 감염을 포함할 수 있다.

[0472] 일부 구현예에서, 대상체에게 (예를 들어, 단일 용량으로) 투여시, 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체)은 동일한 정의된 시간에서의 대조군(예를 들어, BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체)의 수준에 대해, 투여 후 정의된 시간(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14일 이상)에서 혈장 중의 증가된 수준으로 측정된다. 예를 들어, 단일 용량의 투여 후 정의된 시간에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체의 수준은 참조 항체의 상응하는 수준보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 더 높다.

[0473] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체)은 동일한 정의된 시간에서의 대조군의 수준에 대해, (예를 들어, 단일 용량의) 투여 후 정의된 시간(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14일 이상)에 혈장 중의 증가된 수준으로 측정된다. 예를 들어, 투여 후 정의된 시간에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체의 수준은 참조 항체의 상응하는 수준보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 더 높다.

[0474] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 (예를 들어, 대조군, 예를 들어, 참조 항체, 예를 들어, BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체에 대해) 증가된 반감기를 가지며, 따라서 항-BCMA 항체는 증가된 용량간 간격으로 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 항-BCMA 항체는 매주 1회, 2주마다 1회, 3주마다 1회, 4주마다 1회, 6주마다 1회, 8주마다 1회, 또는 더 긴 기간 동안 투여될 수 있다.

[0475] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편의 치료적 유효량은 참조 치료 단백질, 예를 들어 BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 항체의 유효량의 약 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 또는 5%이다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체의 단일 용량은 참조 항체의 2회 이상의 용량과 비교 가능한 치료적 효과를 달성한다.

[0476] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 대상체에서 표적 항원(예를 들어, BCMA)의 농도의 약 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 또는 5%인 용량으로 투여된다.

[0477] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 당업자에게 공지된 임의의 다양한 방법 및 전달 시스템을 사용하여 대상체에게 물리적으로 도입될 수 있다. 본원에 개시된 제형에 대한 예시적인 투여 경로는 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 정맥내, 근육내, 피하, 복막내, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로를 포함한다. 본원에 사용되는 바와 같은 어구 "비경구 투여"는 일반적으로 주사에 의한, 경장 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하고, 비제한적으로, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기천공을 포함한다. 일부 구현예에서, 제형은 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 포함하는 비-비경구 경로, 예를 들어, 비강내, 질내, 직장내, 설하 또는 국소를 통해 투여된다. 투여는 또한, 예를 들어, 1회, 복수회, 및/또는 1회 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0478] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체 또는 이의 단편은 다수의 진단적 및 치료적 용도로 사용될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 조작된 항체의 검출가능하게 표지된 버전은 샘플(예를 들어, 생물학적 샘플)에서 BCMA의 존재 또는 양을 검출하기 위한 검정에서 사용될 수 있다. 본원에 기재된 조작된 항체는 BCMA에 대한 결합을 연구하기 위한 시험관내 검정에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 BCMA-연관 장애를 치료하는 데 유용한 추가의 신규한 화합물을 식별하기 위해 설계된 검정에서 양성 대조군으로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체는 BCMA에 결합하는 추가의 화합물(예를 들어, 소분자, 앱타머, 또는 항체)을 식별하기 위한 검정에서 양성 대조군으로서 사용될 수 있다.

[0479] 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 대상체, 예를 들어, 하나 이상의 BCMA-연관 병태를 갖는, 갖는 것으로 의심되는, 발생할 위험이 있는, 또는 치료 중인 대상체를 모니터링하는 데 사용될 수 있다. 모니터링은 대상체, 예를 들어, 대상체의 혈청 중 BCMA의 양 또는 활성을 결정하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 평가는 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체의 투여 후 적어도 한(1)시간, 예를 들어 적어도 2, 4, 6, 8, 12,

24, 또는 48시간, 또는 적어도 1일, 2일, 4일, 10일, 13일, 20일 이상, 또는 적어도 1주, 2주, 4주, 10주, 13주, 20주 이상 동안 수행된다. 대상체는 다음 기간 중 하나 이상에서 평가될 수 있다: 치료 시작 전; 치료 동안; 또는 치료의 하나 이상의 요소가 투여된 후. 평가는 추가 치료에 대한 필요성을 평가하는 것, 예를 들어 투여량, 투여 빈도, 또는 치료 기간이 변경되어야 하는지 여부를 평가하는 것을 포함할 수 있다. 이는 또한 선택되는 치료적 양식을 추가하거나 또는 중단시킬 필요성을 평가하는 것, 예를 들어, 본원에 기재된 BCMA-연관 장애에 대한 임의의 치료를 추가하거나 또는 중단시키는 것을 포함할 수 있다. 본 발명의 일 구현예에서, 다발성 골수종을 포함하는 다양한 혈액학적 악성 종양의 치료를 위한 BCMA 결합 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)가 개시된다. BCMA 단백질은 암세포 상에서 발현된다. CAR의 BCMA 항원 결합 부분은 이의 BCMA 단편의 세포외 도메인 내의 에피토프와 상호작용한다.

[0480] 특정 구현예에서, 본원에 고려되는 바와 같은 CAR 작제물, 핵산 서열, 벡터, 면역 세포 등, 및/또는 이를 포함하는 약학적 조성물은 암성 질환과 같은 질환의 예방, 치료 또는 개선을 위해 사용된다. 특정 구현예에서, 본 개시내용의 약학적 조성물은 예를 들어 특정 항원을 발현하고 고형 종양일 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있는 암을 포함하는 암의 예방, 개선 및/또는 치료에 특히 유용할 수 있다.

[0481] 특정 구현예에서, 수용체가 활용되는 면역 세포는 포유동물에 대한 세포 요법을 위해 조작된 NK 세포, T 세포, 감마 델타 T 세포, 알파 베타 T 세포, 또는 NKT 또는 불변 NKT(iNKT), 또는 불변 NKT 세포일 수 있다. 세포가 NK 세포인 이러한 경우에, NK 세포 요법은 임의의 종류일 수 있고, NK 세포는 임의의 종류일 수 있다. 특정 구현예에서, 세포는 하나 이상의 CAR 및/또는 하나 이상의 자살 유전자 및/또는 하나 이상의 사이토카인을 발현하도록 조작된 NK 세포이다. 특정 구현예에서, 세포는 CAR로 형질도입된 NK 세포이다.

[0482] 특정 구현예에서, 본 개시내용은 부분적으로, 표준 벡터 및/또는 유전자 전달 시스템을 사용하여 단독으로 또는 임의의 조합으로, 그리고 적어도 일부 양태에서, 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제와 함께 투여될 수 있는 CAR-발현 세포, CAR 작제물, CAR 핵산 분자 및 CAR 벡터를 고려한다. 특정 구현예에서, 투여 후, 핵산 분자 또는 벡터는 대상체의 게놈에 안정적으로 통합될 수 있다.

[0483] 특정 구현예에서, 특정 세포 또는 조직에 특이적이고 NK 세포에서 지속되는 바이러스 벡터가 사용될 수 있다. 적합한 약학적 담체 및 부형제는 당업계에 널리 공지되어 있다. 본 개시내용에 따라 제조된 조성물은 상기 식별된 질환을 예방 또는 치료 또는 지연시키는 데 사용될 수 있다.

[0484] 또한, 본 개시내용은 종양 질환의 예방, 치료 또는 개선 방법에 관한 것이며, 이는 본원에서 고려되고/되거나 본원에서 고려되는 바와 같은 방법에 의해 생산된 CAR, 핵산 서열, 벡터를 발현하는 유효량의 세포를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0485] 예시적인 CAR 세포의 조성물(들)의 투여에 대한 가능한 적응증은 예를 들어 B 세포 악성 종양, 다발성 골수종, 유방암, 교모세포종, 신장암, 췌장암, 또는 폐암을 포함하는 종양 질환을 포함하는 암성 질환이다. 항원-표적화 CAR 세포의 조성물(들)의 투여를 위한 예시적인 적응증은 항원을 발현하는 임의의 악성 종양을 포함하는 암성 질환이다. 본 개시내용의 조성물(들)의 투여는 모든 단계(I, II, III, 또는 IV) 및 예를 들어 최소 잔류 질환, 초기 암, 진행된 암, 및/또는 전이성 암 및/또는 난치성 암을 포함하는 암의 유형에 대해 유용하다.

[0486] 본 개시내용은 다른 화합물, *예를 들어* 이중특이적 항체 작제물, 표적화 독소 또는 면역 세포를 *통해* 작용하는 다른 화합물과 공동-투여 프로토콜을 추가로 포괄한다. 본 발명의 화합물(들)의 공동-투여를 위한 임상 레지멘은 다른 구성요소의 투여 동시에, 전 또는 후에 공동-투여를 포괄할 수 있다. 특정 조합 요법은 화학요법, 방사선, 수술, 호르몬 요법, 또는 다른 유형의 면역요법을 포함한다.

[0487] 특정 양태에서, 본 발명은 BCMA-발현 암 세포의 집단의 증식을 억제하거나 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 BCMA-발현 암 세포의 집단을 BCMA-발현 세포에 결합하는 본 발명의 항-BCMA CAR-발현 세포(예를 들어, BCMA CAR-발현 NK 세포)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일 양태에서, 본 발명은 BCMA-발현 암 세포의 집단의 증식을 억제하거나 감소시키는 방법을 제공하며, 이는 BCMA-발현 암 세포의 집단을 BCMA-발현 세포에 결합하는 본 발명의 항-BCMA CAR-발현 세포(예를 들어, BCMA CAR-발현 NK 세포)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 특정 양태에서, 본 발명의 항-BCMA CAR-발현 세포(예를 들어, BCMA CAR-발현 NK 세포)는 골수성 백혈병 또는 BCMA-발현 세포와 연관된 또 다른 암의 대상체 또는 동물 모델에서 세포 및/또는 암세포의 수, 양, 또는 백분율을 음성 대조군에 대해 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 65%, 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 95%, 또는 적어도 99% 만큼 감소시킨다. 일 양태에서, 대상체는 인간이다.

[0488] 일부 구현예에서, 본 치료 방법이 유용한 암은 임의의 악성 세포 유형, 예컨대 고형 종양 또는 혈액학적 종양에

서 발견되는 것을 포함한다. 예시적인 고형 종양은 췌장, 결장, 맹장, 위, 뇌, 머리, 목, 난소, 신장, 후두, 육종, 폐, 방광, 흑색종, 전립선, 및 유방으로 이루어진 군으로부터 선택되는 기관의 종양을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 예시적인 혈액학적 종양은 골수, T 또는 B 세포 악성 종양, 백혈병, 림프종, 모세포종, 골수종 등의 종양을 포함한다. 본원에 제공된 방법을 사용하여 치료될 수 있는 암의 추가의 예는 폐암(소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 및 폐의 편평상피암 포함), 복막암, 위암 또는 위암(위장관암 및 위장관 간질암 포함), 췌장암, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장(kidney) 또는 신장(renal)암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 다양한 유형의 두경부암, 및 흑색종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0489] 암은 구체적으로 다음 조직학적 유형일 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다: 신생물, 악성; 암종; 암종, 미분화; 거대 및 방추 세포 암종; 소세포 암종; 유두 암종; 편평 세포 암종; 림프상피 암종; 기저 세포 암종; 필로매트릭스 암종; 전이 세포 암종; 유두 전이 세포 암종; 선암종; 위선종, 악성; 담관암종; 간세포 암종; 조합 간세포 암종 및 담관암종; 섬유주 선암종; 샘낭암종; 선종폴립 내의 선암종; 선암종, 가족성 폴립증; 고형 암종; 카르시노이드 종양, 악성; 브란콜로-폐포 선암종; 유두 선암종; 혐색소성 암종; 호산성(acidophil) 암종; 호산성(oxyphilic) 선암종; 호염기성 암종; 투명 세포 선암종; 과립세포 암종; 여포성 선암종; 유두 및 여포성 선암종; 비캡슐화 성낭성 암종; 부신 피질 암종; 자궁내막양 암종, 피부 부속 기관 암종; 아포크린 암종; 지선(sebaceous) 선암종; 이도(ceruminous) 선암종; 점액표피모양(mucoepidermoid) 암종; 낭선암종(cystadenocarcinoma); 유두 낭선암종; 점액낭선암종; 점액 선암종; 반지세포암종; 침윤성 관 암종; 수질암종; 소엽 암종; 염증성 암종; 파제트병, 유방; 선상 세포 암종; 선편평상피암종; 선편평상피암종을 동반한 선암종; 흉선종, 악성; 난소 기질 종양, 악성; 협막세포종(thecoma), 악성; 과립막세포 종양, 악성; 남성모세포종, 악성; 세르토리 세포 암종(sertoli cell carcinoma); 라이디히 세포 종양(leydig cell tumor), 악성; 지질 세포 종양, 악성; 부신경절종(paraganglioma), 악성; 유방 외 부신경절종, 악성; 크롬친화세포종; 사구체육종; 악성 흑색종; 멜라닌결핍 흑색종; 표재 확산 흑색종; 악성 흑색점 흑색종; 말단 흑색점 흑색종; 결절 흑색종; 거대 색소 모반 중 악성 흑색종; 유상피세포 흑색종; 청색 모반, 악성; 육종; 섬유육종; 섬유조직구종, 악성; 점액육종; 지방육종; 평활근육종; 횡문근육종; 배아형횡문근육종; 포상횡문근육종(alveolar rhabdomyosarcoma); 간질육종; 혼합 종양, 악성; 뮬러리안 혼합 종양; 신아세포종; 간모세포종; 간아세포종; 암육종; 간엽종(mesenchymoma), 악성; 브렌너 종양, 악성; 엽상종양(phyllodes tumor), 악성; 활막육종; 중피종, 악성; 난소 고환종(dysgerminoma); 배아암종; 기형종, 악성; 난소갑상선종(struma ovarii), 악성; 융모암종; 중신종, 악성; 혈관육종; 혈관내피종, 악성; 카포시 육종; 혈관주위세포종(hemangiopericytoma), 악성; 림프관육종; 골육종; 피질옆(juxtacortical) 골육종; 연골육종; 연골모세포종, 악성; 중간엽 연골육종; 뼈의 거대 세포 종양; 유잉 육종; 치원성 종양(odontogenic tumor), 악성; 법랑질아세포성 치원성 종양, 법랑아세포종; 악성; 법랑질아세포성 섬유육종; 송과체부종양(pinealoma), 악성; 척삭종; 신경교종, 악성; 상의세포종(ependymoma); 성상세포종; 원형질성 성상세포종; 원섬유성 성상세포종; 성아세포종; 교아세포종; 희소돌기아교세포종(oligodendroglioma); 희소돌기아교모세포종(oligodendroblastoma); 원시 신경외배엽; 소뇌 육종; 신경절아세포종; 신경아세포종; 망막모세포종; 후두신경성 종양; 뇌수막종, 악성; 신경섬유육종; 신경집종(neurilemmoma), 악성; 과립세포 종양, 악성; 악성 림프종; 호지킨병; 호지킨; 부육아종; 악성 림프종, 소림프구증; 악성 림프종, 대세포, 미만성; 악성 림프종, 여포성; 균상식육종(mycosis fungoides); 기타 명시된 비-호지킨 림프종; B-세포 림프종; 저등급/여포성 비-호지킨 림프종(NHL); 소림프구(SL) NHL; 중등급/여포성 NHL; 중등급 미만성 NHL; 고등급 면역아세포성 NHL; 고등급 림프아세포성 NHL; 고등급 소 비-분할 세포 NHL; 거대 종양(bulky disease) NHL; 외투세포 림프종; AIDS-관련 림프종; 발덴스트롬 거대글로불린혈증; 악성 조직구증; 다발성 골수종; 비만 세포 육종; 면역증식성 소장 질환; 백혈병; 림프구 백혈병; 혈장 세포 백혈병; 적백혈병(erythroleukemia); 림프육종 세포 백혈병; 골수성 백혈병; 호염기성 백혈병; 호산구성 백혈병; 단핵구성 백혈병; 비만 세포 백혈병; 거대핵아세포성 백혈병; 골수성 육종; 털세포 백혈병; 만성 림프구 백혈병(CLL); 급성 림프아구성 백혈병(ALL); 급성 골수성 백혈병(AML); 및 만성 골수아구성 백혈병.

[0490] 비-제한적인 예로서, 본 발명의 항-BCMA 항체, CAR, 세포 및 조성물은 B 세포 관련 질환을 치료하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 암은 B-세포 관련 질환이다. 일부 구현예에서, B-세포 관련 질환은 형질세포종, 호지킨 림프종, 여포성 림프종, 소 비-절단 핵 세포 림프종, 풍토성 버킷 림프종, 산발성 버킷 림프종, 변연부 림프종, 림프절외 점막 림프종 조직 림프종, 결절성 단핵구 B 세포 림프종, 비장 림프종, 외투세포 림프종, 대세포 림프종, 미만성 혼합 세포 림프종, 면역아세포성 림프종, 종격동 원발성 B 세포 림프종, 폐 B 세포 혈관중심위 림프종, 소림프구 림프종, 공지되지 않은 악성 B 세포, 림프종-유사 육아종증, 이식후 림프증식성 장애, 면역조절 질환, 류마티스성 관절염, 중증 근무력증(myasthenia gravis), 특발성 혈소판 감소 자반증(idiopathic

Thrombocytepenia Purpura), 항인지질 증후군, 샤가스병, 그레이브스병, 베게너 육아종증, 결절다발동맥염, 쇼그렌 증후군, 천포창, 경피증, 다발성 경화증, 항인지질 증후군, ANCA-관련 혈관염, 굿파스처병(Goodpasture disease), 가와사키병, 자가면역성 용혈성 빈혈, 급속진행사구체신염, 중쇄 질환, 원발성 또는 면역 세포 아밀로이드증으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0491] **약학적 조성물**

[0492] 본 개시내용의 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체에 분산된 NK 세포를 포함하는 유효량의 조성물을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체, 희석제, 가용화제, 유화제, 보존제 및/또는 아쥬반트를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 부형제를 포함한다. 조성물을 포함하는 약학적 조성물의 제조는 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2005에 의해 예시된 바와 같이 본 개시내용에 비추어 당업자에게 공지되어 있으며, 이는 본원에 참조로 포함된다. 또한, 동물(예를 들어, 인간) 투여의 경우, 조제물은 FDA Office of Biological Standards에 의해 요구되는 멸균성, 발열성, 일반적인 안전성 및 순도 표준을 충족해야 하는 것으로 이해될 것이다.

[0493] 본원에서 사용되는 바와 같은 "약학적으로 허용가능한 담체"는 당업자에게 공지된 바와 같이, 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 계면활성제, 항산화제, 보존제(예를 들어, 항균제, 항진균제), 등장화제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 약물, 약물 안정화제, 겔, 결합제, 부형제, 붕해제, 윤활제, 감미제, 향미제, 염료, 예컨대 물질 및 이들의 조합을 포함한다(예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329를 참조하며, 이는 본원에 참조로 포함됨). 임의의 통상적인 담체가 활성 성분과 비상용성인 것을 제외하고는, 약학적 조성물에서의 이의 용도가 고려된다.

[0494] 약학적 조성물은 그것이 고체, 액체 또는 에어로졸 형태로 투여되어야 하는지 여부, 및 주사로서 이러한 투여 경로에 대해 멸균될 필요가 있는지에 따라 상이한 유형의 담체를 포함할 수 있다. 본원에 개시된 조성물은 정맥내로, 피내로, 경피로(transdermally), 척수강내로, 동맥내로, 내시경적으로, 복강내로, 비강내, 질내, 직장내, 국소적으로, 근육내로, 경피로(percutaneously), 피하로, 점막적으로, 경구적으로, 국소적으로, 국부적으로, 흡입(예를 들어, 에어로졸 흡입), 주사, 주입, 연속 주입, 국부 관류 배쓍(bathing) 표적 세포에 직접적으로, 카테터를 통해, 세척(lavage)을 통해, 크림으로, 지질 조성물(예를 들어, 리포솜)으로, 국소 관류에 의해, 종양 미세환경에서, 또는 당업자에게 공지된 바와 같은 다른 방법 또는 상기한 것의 임의의 조합에 의해 투여될 수 있다(예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990을 참조하며, 이는 본원에 참조로 포함됨).

[0495] **제형 및 투여**

[0496] 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체)은 약학적 조성물 내로 혼입될 수 있다. 이러한 약학적 조성물은, 예를 들어, 질환, 예를 들어, BCMA-연관 장애의 예방 및/또는 치료에 유용할 수 있다. 약학적 조성물은 당업자에게 공지된 방법(예컨대 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th edition, ed. Alfonso R. Gennaro, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985)에 기재됨)에 의해 제형화될 수 있다.

[0497] 대상체의 나이 및 병태에 기반하여 적합한 투여 수단이 선택될 수 있다. 본원에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체)을 함유하는 약학적 조성물의 단일 용량은 체중을 기준으로 0.001 내지 1000 mg/kg의 범위로부터 선택될 수 있다. 한편, 용량은 0.001 내지 100000 mg/체중의 범위에서 선택될 수 있으나, 본 개시내용은 이러한 범위에 제한되는 것은 아니다. 용량 및 투여 방법은 환자의 체중, 나이, 병태 등에 따라 다르며, 당업자의 필요에 따라 적합하게 선택될 수 있다.

[0498] 다양한 구현예에서, 약학적 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하도록 제형화될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체의 예는 생리학적으로 상용성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅제, 항균제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 조성물은 약학적으로 허용가능한 염, 예를 들어, 산 부가 염 또는 염기 부가 염을 포함할 수 있다.

[0499] 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함하는 조성물, 예를 들어 주사용 멸균 제형은 비히클로서 주사용 증류수를 사용하는 통상적인 약학적 관행에 따라 제형화될 수 있다. 예를 들어, 글루코스 및 다른 보충물, 예컨대 D-소르비톨, D-만노스, D-만니톨, 및 염화나트륨을 함유하는 생리식염수 또는 등장성 용액을, 선택적으로 적합한 가용화제, 예를 들어 알코올, 예컨대 에탄올 및 폴리알코올, 예컨대 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜, 및 비이온성 계면활성제 예컨대 폴리소르베이트 80™, HCO-50 등과 조합하여, 주사용 수용액

으로서 사용할 수 있다.

[0500] 본원에 개시된 바와 같이, 약학적 조성물은 당업계에 공지된 임의의 형태일 수 있다. 이러한 형태는 예를 들어, 액체, 반고체 및 고체 투여 형태, 예컨대 액체 용액(예를 들어, 주사가능한 용액 및 불용성 용액), 분산액 또는 현탁액, 정제, 환제, 분말, 리포솜 및 좌제를 포함한다.

[0501] 임의의 특정 형태의 선택 또는 사용은 의도된 투여 방식 및 치료적 적용에 부분적으로 의존할 수 있다. 예를 들어, 전신 또는 국부 전달을 위해 의도된 조성물을 함유하는 조성물은 주사가능한 용액 또는 불용성 용액의 형태일 수 있다. 따라서, 조성물은 비경구 방식(예를 들어, 정맥내, 피하, 복강내, 또는 근육내 주사)에 의한 투여를 위해 제형화될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 비경구 투여는 일반적으로 주사에 의한, 경장 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 지칭하며, 비제한적으로, 정맥내, 비강내, 안구내, 폐, 근육내, 동맥내, 척수강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 폐내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외, 뇌내, 두개내, 경동맥내 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.

[0502] 투여 경로는 비경구, 예를 들어, 주사에 의한 투여, 경비강 투여, 경폐 투여, 또는 경피 투여일 수 있다. 투여는 정맥내 주사, 근육내 주사, 복강내 주사, 피하 주사에 의해 전신 또는 국부적일 수 있다.

[0503] 다양한 구현예에서, 본 발명의 약학적 조성물은 용액, 마이크로에멀젼, 분산액, 리포솜, 또는 고농도에서 안정한 저장에 적합한 다른 정렬된 구조로서 제형화될 수 있다. 멸균 주사가능한 용액은 요구에 따른 상기 열거된 성분 중 하나 또는 조합과 함께 적절한 용매에 본원에 기재된 조성물을 요구되는 양으로 혼입시킨 후, 필터 멸균시킴으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 본원에 기재된 조성물을 염기성 분산 매질 및 상기 열거된 것들로부터 요구되는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사가능한 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법은 사전 멸균-여과된 용액으로부터 본원에 기재된 조성물과 임의의 추가의 원하는 성분(하기 참조)의 분말을 산출하는 진공 건조 및 동결-건조를 포함한다. 용액의 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅제의 사용에 의해, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 주사가능한 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 시약, 예를 들어, 모노스테아레이트 염, 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 달성될 수 있다.

[0504] 약학적 조성물은 물 또는 또 다른 약학적으로 허용가능한 액체 중의 멸균 용액 또는 현탁액을 포함하는 주사가능한 제형의 형태로 비경구로 투여될 수 있다. 예를 들어, 약학적 조성물은 치료적 분자를 멸균수 및 생리 식염수, 식물성 오일, 유화제, 현탁제, 계면활성제, 안정화제, 향미 부형제, 희석제, 비히클, 보존제, 결합제와 같은 약학적으로 허용가능한 비히클 또는 매질과 적합하게 조합한 후, 일반적으로 허용되는 약학적 실시에 필요한 단위 용량 형태로 혼합함으로써 제형화될 수 있다. 약학적 조제물에 포함되는 활성 성분의 양은 지정된 범위 내의 적합한 용량이 제공되도록 하는 양이다. 유성 액체의 비제한적인 예는 참기름 및 콩기름을 포함하며, 이는 가용화제로서 벤질 벤조에이트 또는 벤질 알코올과 조합될 수 있다. 포함될 수 있는 다른 물품은 인산염 완충제, 또는 아세트산 나트륨 완충제와 같은 완충제, 프로카인 염산염과 같은 진정제, 벤질 알코올 또는 페놀과 같은 안정화제, 및 항산화제이다. 제형화된 주사제는 적합한 앰플 내에 포장될 수 있다.

[0505] 일부 구현예에서, 조성물은 0℃ 미만의 온도(예를 들어, -20℃ 또는 -80℃)에서 저장을 위해 동결제형화될 수 있다. 동결보존된 세포를 해동시키고 대상체에게 주사하였다. 동결제형화에 사용되는 배지로는 다음 동결보존 배지가 예시된다;

동결보존 배지	조성물
1	50% PLASMA-LYTE-HEPES + 35% 덱스트란/덱스트로스 + 10% HSA + 5% DMSO
2	40% PLASMA-LYTE A+ 50% CS10 +10% HSA
3	50% MEM-HEPEs + 35% 덱스트란/덱스트로스 + 10% HSA + 5% DMSO
4	40% MEM + 50% CS10 +10% HSA
5	38.6% PLASMA-LYTE A + 50% CS10 +10% HSA + 0.8% AA+ 비타민 (0.2% 바이알 1 및 0.4% 바이알 2) + 30 mM 트레할로스
6	40% MEM + 50% CS10 +10% HSA+ 1.5mM 글루타티온
7	40% PLASMA-LYTE A+ 50% CS10 +10% HSA+ 1.5mM 글루타티온
8	38.6% PLASMA-LYTE A + 50% CS10 +10% HSA + 0.8% AA+ 0.6% 비타민 + 1.5mM 글루타티온
9	40% PLASMA-LYTE A+ 50% CS10 +10% HSA + 30 mM 트레할로스

[0506]

[0507] 동결제형화에 사용되는 각각의 구성요소는 임의의 상업적으로 입수가능한 공급원으로부터 수득될 수 있다. 비-제한적인 예로서, 상기 언급된 각각의 구성요소는 다음 공급업체로부터 수득될 수 있다:

구성요소	공급업체
PLASMA-LYTE A	Baxter
MEM	Thermo Fisher
25% HAS	Shire
글루타티온	Sigma Aldrich
아미노산 용액	Baxter
DMSO	Origen Biomedical
비타민 용액	Baxter
CryoStor® CS10	BioLife Solutions
트레할로스	J. T. Baker

[0508]

[0509] 일부 구현예에서, 조성물은 2-8℃(예를 들어, 4℃)에서 최대 2년(예를 들어, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 1년, 1.5년, 또는 2년) 동안 저장하기 위해 제형화될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은 2-8℃(예를 들어, 4℃)에서 적어도 1년 동안 저장매체(storage)에서 안정하다.

[0510] 특정 경우에, 약학적 조성물은 용액으로서 제형화될 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물은, 예를 들어 적합한 농도의 완충 용액으로서 제형화될 수 있고, 2-8℃(예를 들어, 4℃)에서 저장하기에 적합할 수 있다.

[0511] 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 조작된 항체를 포함하는 조성물은 면역리포솜 조성물 중에 제형화될 수 있다. 이러한 제형은 당업계에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 향상된 순환 시간을 갖는 리포솜은 예를 들어, 미국 특허 번호 5,013,556에 개시되어 있다.

[0512] 특정 구현예에서, 조성물은 임플란트 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 포함하는 방출조절제(controlled release formulation)와 같은 신속 방출에 대해 화합물을 보호할 담체로 제형화될 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안하이드라이드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제형의 제조를 위한 많은 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, J. R. Robinson (1978) "*Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*," Marcel Dekker, Inc., New York을 참조한다.

[0513] 일부 구현예에서, 조성물은 포유동물, 예컨대 인간에게 폐내 투여(예를 들어, 흡입기 또는 네뷸라이저를 통한 투여)에 적합한 조성물로 제형화될 수 있다. 이러한 조성물을 제형화하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 건조 분말 흡입기 제형 및 제형의 투여를 위한 적합한 시스템이 또한 당업계에 공지되어 있다. 폐 투여는 경구

및/또는 비강일 수 있다. 폐 전달을 위한 약학적 장치의 예는 정량식 흡입기, 건조 분말 흡입기(DPI), 및 네뷸라이저를 포함한다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물은 건조 분말 흡입기에 의해 대상체의 폐에 투여될 수 있다. 이들 흡입기는 분산가능하고 안정한 건조 분말 제형을 폐로 전달하는 추진제가 없는 장치이다. 건조 분말 흡입기는 의약 분야에서 널리 공지되어 있으며, 이는 TURBOHALER®(AstraZeneca; London, England) AIR® 흡입기(ALKERMES®; Cambridge, Mass.); ROTAHALER®(GlaxoSmithKline; London, England); 및 ECLIPSE™(Sanofi-Aventis; Paris, France)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, PCT 공보 번호 WO 04/026380, WO 04/024156 및 WO 01/78693을 또한 참조한다. DPI 장치는 인슐린 및 성장 호르몬과 같은 폴리펩티드의 폐 투여에 사용되었다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은 정략식 흡입기에 의해 폐내에 투여될 수 있다. 이들 흡입기는 별개의 용량의 화합물을 폐로 전달하기 위해 추진제에 의존한다. 추가의 장치 및 폐내 투여 방법이 예를 들어 미국 특허 출원 공보 번호 20050271660 및 20090110679에 기재되어 있으며, 이들 각각의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0514] 일부 구현예에서, 조성물은, 예를 들어, 약학적으로 허용가능한 용액, 현탁액 또는 연고의 형태로, 눈에 전달을 위해 제형화될 수 있다. 눈을 치료하는 데 사용하기 위한 조제물은, 예를 들어, 보존제, 완충제, 등장화제(tonicity agent), 항산화제 및 안정화제, 비이온성 습윤제 또는 청징제(clarifying agent), 및 점도-증가제와 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 추가 성분을 함유하는 멸균 수용액의 형태일 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 조제물은 통상적인 방법에 의해, 예를 들어 점적제의 형태로, 또는 하나 이상의 조성물을 함유하는 치료적 용액에서 눈을 씻음으로써 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, AMD를 앓고 있는 대상체)의 눈에 국소적으로 투여될 수 있다.

[0515] 눈의 유리체강 내로 약물을 도입하기 위한 다양한 장치가, 특정 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 조성물의 투여를 위해 적절할 수 있다. 예를 들어, 미국 공보 번호 2002/0026176은 약학적 제제를 유리체강 내로 전달하기 위해 유리체강 내로 돌출되도록 공막을 통해 삽입될 수 있는 약제(pharmaceutical)-함유 플러그를 기재한다. 또 다른 예에서, 미국 특허 번호 5,443,505는 눈의 내부로 약물의 서방성 방출을 위해 맥락막위 공간 또는 무혈관 영역 내로 도입하기 위한 이식가능한 장치를 기재한다. 미국 특허 번호 5,773,019 및 6,001,386은 각각 눈의 공막 표면에 부착가능한 이식가능한 약물 전달 장치를 개시한다. 눈에 치료제를 전달하기 위한 추가의 방법 및 장치(예를 들어, 공막경유(trans scleral) 패치 및 콘택트 렌즈를 통한 전달)가 예를 들어 Ambati 및 Adamis (2002) *Prog Retin Eye Res* 21(2):145-151; Ranta 및 Urtti (2006) *Adv Drug Delivery Rev* 58(11):1164-1181; Barocas 및 Balachandran (2008) *Expert Opin Drug Delivery* 5(1):1-10(10); Gulsen 및 Chauhan (2004) *Invest Opthalmol Vis Sci* 45:2342-2347; Kim 등 (2007) *Ophthalmic Res* 39:244-254; 및 PCT 공보 번호 WO 04/073551에 기재되어 있으며, 이들 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0516] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 항체의 투여는 대상체에게 항체를 암호화하는 핵산을 투여함으로써 달성된다. 본원에 기재된 치료적 항체를 암호화하는 핵산은 세포 내에서 항체를 발현하고 생산하기 위해 사용될 수 있는 핵산을 전달하기 위해 유전자 요법 프로토콜의 일부로서 사용될 유전자 작제물 내로 혼입될 수 있다. 이러한 구성요소의 발현 작제물은 임의의 치료적으로 효과적인 담체, 예를 들어, 구성요소 유전자를 *생체내* 세포에 효과적으로 전달할 수 있는 임의의 제형 또는 조성물로 투여될 수 있다. 접근법은 재조합 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 렌티바이러스, 및 헤르페스 심플렉스 바이러스-1(HSV-1), 또는 재조합 박테리아 또는 진핵 플라스미드를 포함하는 바이러스 벡터에 대상체 유전자의 삽입을 포함한다. 바이러스 벡터는 세포를 직접적으로 형질감염시킬 수 있고; 플라스미드 DNA는 예를 들어 양이온성 리포솜(리포펙틴) 또는 유도체화된 폴리리신 접합체, 그라미시딘 S, 인공 바이러스막 또는 다른 이러한 세포내 담체의 도움으로 전달될 수 있을 뿐만 아니라, 유전자 작제물의 직접 주사 또는 $CaPO_4$ 침전(예를 들어, WO04/060407 참조)을 통해 전달될 수 있다. 적합한 레트로바이러스의 예는 당업자에게 공지된 pLJ, pZIP, pWE 및 pEM을 포함한다(예를 들어, Eglitis 등 (1985) *Science* 230:1395-1398; Danos 및 Mulligan (1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85:6460-6464; Wilson 등 (1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85:3014-3018; Armentano 등 (1990) *Proc Natl Acad Sci USA* 87:6141-6145; Huber 등 (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8039-8043; Ferry 등 (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:8377-8381; Chowdhury 등 (1991) *Science* 254:1802-1805; van Beusechem 등 (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:7640-7644; Kay 등 (1992) Human Gene Therapy 3:641-647; Dai 등 (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10892-10895; Hwu 등 (1993) *J Immunol* 150:4104-4115; U.S. Pat. Nos. 4,868,116 and 4,980,286; 및 PCT 공보 번호 WO89/07136, WO89/02468, WO89/05345, 및 WO92/07573 참조). 또 다른 바이러스 유전자 전달 시스템은 아데노바이러스-유래 벡터를 활용한다(예를 들어, Berkner 등 (1988) *BioTechniques* 6:616; Rosenfeld 등 (1991) *Science* 252:431-434; 및 Rosenfeld 등 (1992) *Cell* 68:143-155 참조). 아데노바이러스 균주 Ad 유형 5

d1324 또는 다른 아데노바이러스 균주(예를 들어, Ad2, Ad3, Ad7 등)로부터 유래된 적합한 아데노바이러스 벡터는 당업자에게 공지되어 있다. 대상체 유전자의 전달에 유용한 또 다른 바이러스 벡터 시스템은 아데노-연관 바이러스(AAV)이다. 예를 들어, Flotte 등 (1992) *Am J Respir Cell Mol Biol* 7:349-356; Samulski 등 (1989) *J Virol* 63:3822-3828; 및 McLaughlin 등 (1989) *J Virol* 62:1963-1973을 참조한다.

[0517] 다양한 구현예에서, 피하 투여는 장치, 예컨대 주사기, 사전 충전된 주사기, (예를 들어, 일회용 또는 재사용가능한) 자동-주입기, 펜 주입기, 패치 주입기, 착용가능한 주입기, 피하 주입 세트를 갖는 이동식 주사기 주입 펌프, 또는 피하 주입을 위해 항체 약물과 조합하기 위한 다른 장치에 의해 달성될 수 있다.

[0518] 본 발명의 주사 시스템은 미국 특허 번호 5,308,341에 기재된 바와 같이 전달 펜을 이용할 수 있다. 당뇨병 환자에게 인슐린을 자가-전달하기 위해 가장 흔히 사용되는 펜 장치는 당업계에 널리 공지되어 있다. 이러한 장치는 적어도 하나의 주사 바늘(예를 들어, 길이가 약 5 내지 8 mm인 31 게이지 바늘)을 포함할 수 있고, 전형적으로 치료적 용액의 하나 이상의 치료적 단위 용량으로 사전-충전되며, 가능한 한 적은 통증으로 대상체에게 용액을 신속하게 전달하는 데 유용하다. 하나의 약제 전달 펜은 치료제 또는 다른 약제의 바이알이 수용될 수 있는 바이알 홀더를 포함한다. 펜은 전적으로 기계적인 장치일 수 있거나 또는 사용자에게 주사되는 약제의 투여량을 정확하게 설정 및/또는 표시하기 위해 전자 회로와 조합될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,192,891을 참조한다. 일부 구현예에서, 펜 장치의 바늘은 일회용이고 키트는 하나 이상의 일회용 교체 바늘을 포함한다. 현재 특성화된 조성물 중 임의의 하나의 전달에 적합한 펜 장치가 또한, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,277,099; 6,200,296; 및 6,146,361에 기재되어 있으며, 이들 각각의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 미세바늘-기반 펜 장치가 예를 들어 미국 특허 번호 7,556,615에 기재되어 있으며, 이의 개시내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. Scandinavian Health Ltd에 의해 제조된 정밀 펜 주입기(PPI) 장치, MOLLY™를 참조한다.

[0519] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은 국부 투여 방식에 의해 대상체에게 치료적으로 전달될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "국부 투여" 또는 "국부 전달"은 혈관계를 통한 조성물 또는 제제의 의도된 표적 조직 또는 부위로의 수송에 의존하지 않는 전달을 지칭할 수 있다. 예를 들어, 조성물은 조성물 또는 제제의 주사 또는 이식에 의해, 또는 조성물 또는 제제를 함유하는 장치의 주사 또는 이식에 의해 전달될 수 있다. 특정 구현예에서, 표적 조직 또는 부위 부근에서의 국부 투여 후, 조성물 또는 제제, 또는 이의 하나 이상의 구성요소는 투여 부위가 아닌 의도된 표적 조직 또는 부위로 확산될 수 있다.

[0520] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 조성물은 단위 투여 형태로 존재하며, 단위 투여 형태는 자가-투여에 적합할 수 있다. 이러한 단위 투여 형태는 용기, 전형적으로 예를 들어, 바이알, 카트리지, 사전충전된 주사기 또는 일회용 펜 내에 제공될 수 있다. 미국 특허 번호 6,302,855에 기재된 투여기 장치와 같은 투여기는 또한, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 주사 시스템과 함께 사용될 수 있다.

[0521] 대상체에서 장애를 치료하거나 예방할 수 있는 본원에 기재된 조성물의 적합한 용량은, 예를 들어, 치료될 대상체 및 사용되는 특정 억제제 화합물의 나이, 성별, 및 체중을 포함하는 다양한 인자에 의존할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 항체를 포함하는 하나의 조성물의 상이한 용량은 해당 항체의 상이한 제형의 용량과 비교하여 BCMA-연관 장애를 갖는 대상체를 치료하는 데 필요할 수 있다. 대상체에게 투여되는 용량에 영향을 미치는 다른 인자는, 예를 들어, 장애의 유형 또는 중증도를 포함한다. 예를 들어, 하나의 BCMA-연관 장애를 갖는 대상체는 또 다른 BCMA-연관 장애를 갖는 대상체와 상이한 투여량의 투여를 요구할 수 있다. 다른 인자는, 예를 들어, 대상체에 동시에 또는 이전에 영향을 미치는 다른 의학적 장애, 대상체의 일반적인 건강 상태, 대상체의 유전적 성향, 식이, 투여 시간, 배설률, 약물 조합, 및 대상체에 투여되는 임의의 다른 추가 치료제를 포함할 수 있다. 또한, 임의의 특정 대상체에 대한 특이적 투여량 및 치료 레지멘이 또한 의료 종사자의 판단에 기반하여 조정될 수 있다는 것이 이해되어야 한다.

[0522] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은 고정 용량으로서, 또는 킬로그램당 밀리그램(mg/kg) 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 용량은 조성물 중 항체 또는 이의 항원-결합 단편 중 하나 이상에 대한 항체 또는 다른 숙주 면역 반응의 생산을 감소시키거나 회피하기 위해 선택된다. 제한하는 것으로 의도되지 않지만, 본원에 기재된 조성물과 같은 항체의 예시적인 투여량은 예를 들어 1-1000 mg/kg, 1-100 mg/kg, 0.5-50 mg/kg, 0.1-100 mg/kg, 0.5-25 mg/kg, 1-20 mg/kg, 및 1-10 mg/kg을 포함한다. 본원에 기재된 조성물의 예시적인 투여량은 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1.0 mg/kg, 2.0 mg/kg, 4 mg/kg, 8 mg/kg, 또는 20 mg/kg을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0523] 일부 구현예에서, 조성물은 비정상적인 BCMA 발현과 연관된 질환의 하나 이상의 증상을 감소시키거나 치료하기에 충분한 투여 및 투여 간격으로 투여된다. 일부 구현예에서, 조성물은 매일, 1일 2회, 주 1회, 주 2회, 주 3

회, 2주마다 1회, 월 1회, 2개월마다 1회, 6개월마다 1회, 또는 매년 1회 투여된다. 일부 구현예에서, 치료는 항체의 단일 투여를 포함한다.

[0524] 일부 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 부형제를 포함하는 약학적 조성물이다.

[0525] 약학적 용액은 본원에 기재된 조성물의 치료적 유효량을 포함할 수 있다. 이러한 유효량은 투여된 조성물의 효과, 또는 하나 초과의 제제가 사용되는 경우, 조성물 및 하나 이상의 추가의 활성제의 조합 효과에 부분적으로 기반하여 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 본원에 기재된 조성물의 치료적 유효량은 또한 개체의 질환 상태, 나이, 성별, 및 체중과 같은 인자, 및 개체에서 원하는 반응을 유도하는 조성물 (및 하나 이상의 추가 활성제)의 능력, 예를 들어 적어도 하나의 병태 파라미터의 개선, 예를 들어 BCMA-연관 장애의 적어도 하나의 증상의 개선에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물의 치료적 유효량은 특정 장애, 및/또는 당업계에 공지되거나 본원에 기재된 특정 장애의 증상 중 임의의 하나를 억제 (이의 중증도를 감소시키거나 이의 발생을 제거) 및/또는 예방할 수 있다. 치료적 유효량은 또한 조성물의 임의의 독성 또는 해로운 효과가 치료적으로 유익한 효과에 의해 능가하는 양이다.

[0526] 본원에 기재된 임의의 조성물의 적합한 인간 용량은, 예를 들어, 단계 I 용량 증가 연구에서 추가로 평가될 수 있다. 예를 들어, van Gurp 등 (2008) *Am J Transplantation* 8(8):1711-1718; Hanouska 등 (2007) *Clin Cancer Res* 13(2, part 1):523-531; 및 Hetherington 등 (2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10): 3499-3500을 참조한다.

[0527] 조성물의 독성 및 치료적 효능은 세포 배양물 또는 실험 동물에서 공지된 약학적 절차(예를 들어, BCMA-연관 장애 중 임의의 것의 동물 모델)에 의해 결정될 수 있다. 이들 절차는 예를 들어 LD_{50}(집단의 50%에 대해 치명적인 용량) 및 ED_{50}(집단의 50%에서 치료적으로 효과적인 용량)을 결정하기 위해 사용될 수 있다. 독성 효과와 치료적 효과 사이의 용량 비율은 치료적 지수이며, 이는 LD_{50}/ED_{50} 비율로 표현될 수 있다. 높은 치료적 지수를 나타내는 본원에 기재된 조성물이 바람직하다. 독성 부작용을 나타내는 조성물이 사용될 수 있지만, 그러한 화합물을 영향을 받는 조직 부위에 표적화하고 정상 세포에 대한 잠재적인 손상을 최소화하여 부작용을 감소시키는 전달 시스템을 설계하기 위해 주의를 기울여야 한다.

[0528] 당업자는 세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 수득된 데이터가 인간에서 사용하기 위한 투여량 범위를 제형화하는 데 사용될 수 있음을 인식할 것이다. 본원에 기재된 조성물의 적절한 투여량은 일반적으로 독성이 거의 없거나 전혀 없는 ED_{50}을 포함하는 조성물의 순환 농도 범위 내에 있다. 투여량은 이용되는 투여 형태 및 활용되는 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 달라질 수 있다. 본원에 기재된 조성물의 경우, 치료적 유효 용량은 초기에 세포 배양 검정으로부터 추정될 수 있다. 용량은 세포 배양에서 결정된 바와 같은 I_0(즉, 증상의 최대 억제의 절반을 달성하는 항체의 농도)을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 달성하기 위해 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 이러한 정보는 인간에서 유용한 용량을 보다 정확하게 결정하는 데 사용될 수 있다. 플라즈마의 수준은, 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어 국부 투여(예를 들어, 눈 또는 관절에)가 요구되는 경우, 세포 배양 또는 동물 모델링을 사용하여 국부 부위 내에서 치료적 유효 농도를 달성하는 데 필요한 용량을 결정할 수 있다.

[0529] **조합 요법**

[0530] 본 개시내용에 따르면, 본원에 기재된 항체, 항원 결합 단편, CAR, CAR을 발현하는 벡터 및 세포 및 조성물은 암 치료를 위한 다른 요법과 조합하여 사용될 수 있다.

[0531] 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체는 대상체에게 적어도 하나의 추가 제제를 투여하는 것을 추가로 포함하는 치료 과정에 포함될 수 있다. 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체와 조합하여 투여되는 추가 제제는 화학요법제일 수 있다.

[0532] 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체, 이의 단편은 암 세포에 결합하고, 암 세포에 치료제를 전달하고, 인간 BCMA를 발현하는 암 세포를 사멸시키기 위해 치료제(예를 들어, 화학요법제 및 방사성 원자)에 접합(예를 들어, 연결)될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-BCMA 항체는 치료제에 연결된다. 일부 구현예에서, 치료제는 화학요법제, 사이토카인, 방사성 원자, siRNA, 또는 독소이다. 일부 구현예에서, 치료제는 화학요법제이다. 일부 구현예에서, 제제는 방사성 원자이다.

[0533] 일부 구현예에서, 상기 방법은 BCMA-연관 장애에 대한 다른 요법과 함께 수행될 수 있다. 예를 들어, 조성물은

화학요법과 동시에, 화학요법 전에 또는 화학요법 후에 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물은 입양 요법 방법과 동시에, 입양 요법 전에 또는 입양 요법 후에 대상체에게 투여될 수 있다.

[0534] 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체와 조합하여 투여되는 추가 제제는 항-BCMA 항체와 동시에, 항-BCMA 항체와 동일한 날에, 또는 항-BCMA 항체와 동일한 주에 투여될 수 있다. 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체와 조합하여 투여되는 추가 제제는 항-BCMA 항체와 함께 단일 제형으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 추가 제제는 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체의 투여와 시간적으로 분리된 방식으로, 예를 들어, 항-BCMA 항체의 투여 전 또는 후 1시간 이상, 항-BCMA 항체의 투여 전 또는 후 1일 이상, 항-BCMA 항체의 투여 전 또는 후 1주 이상, 또는 항-BCMA 항체의 투여 전 또는 후 1개월 이상 동안 투여된다. 다양한 구현예에서, 하나 이상의 추가 제제의 투여 빈도는 본원에 기재된 바와 같은 항-BCMA 항체의 투여 빈도와 동일하거나, 유사하거나, 상이할 수 있다.

[0535] 본원에 기재된 바와 같은 2개의 별개의 항체의 투여를 포함하는 치료 레지멘 및/또는 복수의 제형 및/또는 투여 경로에 의한 본원에 기재된 바와 같은 항체의 투여를 포함하는 치료 레지멘이 조합 요법 내에 포괄된다.

[0536] 일부 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 추가 치료제, 예를 들어, 대상체에서 BCMA-연관 장애(예를 들어, 암 또는 자가면역 장애)를 치료 또는 예방하기 위한 추가 요법과 함께 제형화될 수 있다. 대상체에서 BCMA-연관 장애를 치료하기 위한 추가 제제는 치료되는 특정 장애에 따라 달라질 것이지만, 비제한적으로, 리툭시맙, 사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 프레드니손, 오스파미드, 카르보플라틴, 에토포시드, 덱사메타손, 시타라빈, 시스플라틴, 사이클로포스파미드 또는 플루다라빈을 포함할 수 있다.

[0537] 본원에 기재된 조성물은 이전에 또는 현재 투여된 요법을 대체하거나 증강시킬 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 조성물로 치료 시, 하나 이상의 추가 활성제의 투여는 중단되거나 감소될 수 있고, 예를 들어, 본원에 기재된 항-BCMA 항체의 투여 후, 보다 낮은 수준, 예를 들어, BCMA 결합에 대해 교차-경쟁하는 참조 항체의 보다 낮은 수준으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 이전 요법의 투여가 유지될 수 있다. 일부 구현예에서, 이전 요법은 조성물의 수준이 치료적 효과를 제공하기에 충분한 수준에 도달할 때까지 유지될 것이다. 2가지 요법은 조합되어 투여될 수 있다.

[0538] 특정 구현예에서, 본 구현예의 조성물 및 방법은 적어도 하나의 추가 요법과 조합된 면역 세포 집단(NK 세포 집단 포함)을 포함한다. 추가 요법은 방사선 요법, 수술(예를 들어, 종괴절제술 및 유방절제술), 화학요법, 유전자 요법, DNA 요법, 바이러스 요법, RNA 요법, 면역요법, 골수 이식, 나노요법, 모노클로날 항체 요법, 호르몬 요법, 종양분해 바이러스, 또는 이들의 조합일 수 있다. 추가 요법은 아쥬반트 또는 네오아쥬반트 요법의 형태일 수 있다.

[0539] 일부 구현예에서, 추가 요법은 소분자 효소 억제제 또는 항-전이제의 투여이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 부작용 제한제(limiting agent)(예를 들어, 치료의 부작용 발생 및/또는 중증도를 감소시키도록 의도된 제제, 예컨대 항-구역제 등)의 투여이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 방사선 요법이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 수술이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 방사선 요법과 수술의 조합이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 감마 방사선이다. 일부 구현예에서, 추가 요법은 PBK/AKT/mTOR 경로, HSP90 억제제, 튜불린 억제제, 아폽토시스 억제제, 및/또는 화학예방제를 표적화하는 요법이다. 추가 요법은 당업계에 공지된 하나 이상의 화학요법제일 수 있다.

[0540] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 본 발명의 세포 요법에 추가하여, 개체는 수술, 방사선, 면역요법(본 개시내용의 세포 요법 이외의), 호르몬 요법, 유전자 요법, 화학요법 등 중 하나 이상을 포함하는 암에 대한 특이적 추가 요법을 제공받았을 수 있고/있거나 제공되었을 수 있고/있거나 제공될 것이다.

[0541] 면역 세포 요법은 추가 암 요법 전에, 동안에, 후에, 또는 이에 대해 다양한 조합으로 투여될 수 있다. 투여는 동시에 수 분 내지 수 일 내지 수 주의 간격으로 이루어질 수 있다. 면역 세포 요법이 추가 치료제와는 별도로 환자에게 제공되는 구현예에서, 일반적으로 유의한 기간이 각각의 전달 시간 사이에 만료되지 않는 것을 보장하여, 2개의 화합물이 여전히 환자에게 유리하게 조합된 효과를 발휘할 수 있게 할 것이다. 이러한 경우에, 서로 약 12 내지 24 또는 72시간 이내에, 더욱 특히, 서로 약 6-12시간 이내에 항체 요법 및 항암 요법을 환자에게 제공할 수 있는 것으로 생각된다. 일부 상황에서, 각각의 투여 사이에 수 일(2, 3, 4, 5, 6, 또는 7) 내지 수 주(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8)가 경과한 경우에 치료 기간을 유의하게 연장하는 것이 바람직할 수 있다.

[0542] 다양한 조합이 이용될 수 있다. 예를 들어, 면역 세포 요법은 "A"이고 항암 요법은 "B"이다:

[0543] A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B A/B/B B/A/A A/B/B/B B/A/B/B

[0544] B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A

[0545] B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A

[0546] 본 구현예의 임의의 화합물 또는 세포 요법을 환자에게 투여하는 것은 제제가 있는 경우, 독성을 고려하여, 이러한 화합물을 투여하기 위한 일반적인 프로토콜을 따를 것이다. 따라서, 일부 구현예에서, 조합 요법에 기인하는 독성을 모니터링하는 단계가 있다.

[0547] **A. 화학 요법**

[0548] 매우 다양한 화학요법제가 본 구현예에 따라 사용될 수 있다. 용어 "화학요법"은 암을 치료하기 위해 약물을 사용하는 것을 지칭한다. "화학치료제"는 암의 치료에 투여되는 화합물 또는 조성물을 의미하는 데 사용된다. 이들 제제 또는 약물은 세포 내에서 활성 방식, 예를 들어 세포 주기에 영향을 미치는지 여부와 어느 단계에서 영향을 미치는지에 따라 분류된다. 대안적으로, 제제는 DNA를 직접 가교결합시키거나, DNA 내로 삽입시키거나, 핵산 합성에 영향을 미침으로써 염색체 및 유사분열 비정상성을 유도하는 이의 능력에 기반하여 특징화될 수 있다.

[0549] 화학요법제의 예는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 사이클로포스파미드; 알킬 술포네이트, 예컨대 부술판, 임프로술판 및 피포술판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌에티오포스포르아미드 및 트리메틸올로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토게닌(특히 불라타신 및 불라타시논); 캄토테신(합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토피신(특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신(합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘류테로바틴; 판크라티스타틴; 사르코코티신; 스포지스폰스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 염산염, 멜팔란, 노벰비킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 및 우라실 머스타드; 니트로슈레아(nitrosurea), 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라니무스틴; 엔다이아인 항생제(예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마 1I 및 칼리케아미신 오메가 1I); 디네마이신 A를 포함하는 디네마이신; 비스포네이트, 예컨대 클로드로네이트; 에스페라마이신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 엔다이아인 항생물성 발색단, 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라니신, 아자세린, 블레오마이신, 칵티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신(모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라르니신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 푸로마이신, 켈라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 및 조루비신; 항-대사물질, 예컨대 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU); 엽산 유사체, 예컨대 데노프테린, 프테롭테린, 및 트리메트렉세이트; 푸린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토푸린, 티아미프린 및 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈 및 플록시딘; 안드로겐, 예컨대 에피테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트; 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 및 테스톨락톤; 항-아드레날, 예컨대 미토탄 및 트리로스탄; 엽산 보충제, 예컨대 프로린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 바이센트린; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다닌; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미토잔트론; 모피단몰; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로소잔트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK다당류 복합체; 라조산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센(특히, T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가사이토신; 아라비노시드("Ara-C"); 사이클로포스파미드; 탁소이드, 예를 들어, 파클리탁셀 및 도세탁셀 겜시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토푸린; 플래티넘 배위 복합체, 예컨대, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 플래티넘; 에토포시드(VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; 이리노테칸(예를 들어, CPT-11); 토포이소머라아제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸로르니틴(DMFO); 레티노이드, 예컨대, 레티노산; 카페시타빈; 카르보플라틴, 프로카르

바진, 플리코마이신, 겜시토마이신, 겜시타네실, 나벨빈 파네실-단백질 탄스페라제 억제제, 트랜스플래티넘, 및 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염, 산, 또는 유도체를 포함한다.

[0550] **B. 방사선 요법**

[0551] DNA 손상을 유발하고 광범위하게 사용된 다른 인자는 γ-선, X-선, 및/또는 종양 세포로의 방사성 동위원소의 직접 전달로서 통상적으로 공지된 것이 포함한다. 마이크로파, 양성자 빔 조사(미국 특허 5,760,395 및 4,870,287), 및 UV-조사와 같은 다른 형태의 DNA 손상 인자가 또한 고려된다. 이들 인자 모두는 DNA, DNA의 전구체, DNA의 복제 및 복구, 및 염색체의 조립 및 유지에 광범위한 손상을 일으킬 가능성이 크다. X-선에 대한 방사선량 범위는 장기간(3 내지 4주) 동안 50 내지 200 뢴트겐의 일일 방사선량 내지 2000 내지 6000 뢴트겐의 단일 방사선량이다. 방사성 동위원소에 대한 방사선량 범위는 광범위하게 다양하며, 동위원소의 반감기, 방출되는 방사선의 강도 및 유형, 신생물성 세포에 의한 흡수에 따라 달라진다.

[0552] **C. 면역요법**

[0553] 당업자는 추가 면역요법이 구현예의 방법과 조합하여 또는 함께 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 암 치료의 맥락에서, 면역치료제는 일반적으로 암 세포를 표적화하고 파괴하기 위해 면역 이펙터 세포 및 분자의 사용에 의존한다. 리툭시맙(RITUXAN®)이 그러한 예이다. 면역 이펙터는 예를 들어, 종양 세포의 표면 상의 일부 마커에 특이적인 항체일 수 있다. 항체 단독은 요법의 이펙터로서 역할을 할 수 있거나 실제로 세포 사멸에 영향을 미치도록 다른 세포를 동원할 수 있다. 항체는 또한 약물 또는 독소(화학치료제, 방사성핵종, 리신 A 사슬, 콜레라 독소, 백일해 독소 등)에 접합될 수 있고 표적화 제제로서 작용할 수 있다. 대안적으로, 이펙터는 종양 세포 표적과 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하는 표면 분자를 운반하는 림프구일 수 있다. 다양한 이펙터 세포는 세포독성 T 세포 및 NK 세포를 포함한다.

[0554] 항체-약물 접합체는 암 치료제 개발의 획기적인 접근법으로 떠올랐다. 암은 전 세계적으로 사망의 주요 원인 중 하나이다. 항체-약물 접합체(ADC)는 세포-사멸 약물에 공유 연결된 모노클로날 항체(MAb)를 포함한다. 이러한 접근법은 이들의 항원 표적에 대한 MAb의 높은 특이도를 매우 강력한 세포독성 약물과 조합하여, 풍부한 수준의 항원을 갖는 종양 세포에 페이로드(약물)를 전달하는 "무장된" MAb를 생성한다. 약물의 표적 전달은 또한 정상 조직에서 이의 노출을 최소화하여 감소된 독성 및 개선된 치료적 지수를 초래한다. 2011년에 ADCETRIS®(브렌툭시맙 베도틴) 및 2013년에 KADCYLA®(트라스투주맙 엠탄신 또는 T-DM1)의 2가지 ADC 약물의 승인은 접근법을 입증하였다. 현재 암 치료를 위한 임상 시험의 다양한 단계에서 30개 초과의 ADC 약물 후보가 있다(Leal 등, 2014). 항체 공학 및 링커-페이로드 최적화가 점점 더 성숙해짐에 따라, 새로운 ADC의 발견 및 개발은 이러한 접근법에 적합한 새로운 표적의 식별 및 검증 및 표적화 MAb의 생성에 점점 더 의존하고 있다. ADC 표적에 대한 2가지 기준은 종양 세포에서 발현의 상향조절/높은 수준 및 강력한 내재화이다.

[0555] 면역요법의 일 양태에서, 종양 세포는 표적화에 적합한, 즉 다른 세포의 대부분에 존재하지 않는 일부 마커를 지녀야만 한다. 많은 종양 마커가 존재하고 이들 중 임의의 것이 본 구현예의 맥락에서 표적화에 적합할 수 있다. 일반적인 종양 마커는 CD20, 암배아 항원, 티로시나아제(p97), gp68, TAG-72, HMFG, 시알릴 루이스 항원, MucA, MucB, PLAP, 라미닌 수용체, erb B, 및 p155를 포함한다. 면역요법의 대안적인 양태는 항암 효과와 면역 자극 효과를 조합하는 것이다. 면역 자극 분자는 또한 사이토카인, 예컨대 IL-2, IL-4, IL-12, GM-CSF, 감마-IFN, 케모킨, 예컨대 MIP-1, MCP-1, IL-8, 및 성장 인자, 예컨대 FLT3 리간드를 포함하여 존재한다.

[0556] 현재 조사 중이거나 사용 중인 면역요법의 예는 면역 아쥬반트, 예를 들어, *마이코박테리움 보비스*, *플라스모디움 팔시파룸*, 디니트로클로로벤젠, 및 방향족 화합물(미국 특허 5,801,005 및 5,739,169; Hui 및 Hashimoto, 1998; Christodoulides 등, 1998); 사이토카인 요법, 예를 들어, 인터페론 α, β 및 γ, IL-1, GM-CSF, 및 TNF(Bukowski 등, 1998; Davidson 등, 1998; Hellstrand 등, 1998); 유전자 요법, 예를 들어, TNF, IL-1, IL-2, 및 p53(Qin 등, 1998; Austin-Ward 및 Villaseca, 1998; 미국 특허 5,830,880 및 5,846,945); 및 모노클로날 항체, 예를 들어, 항-CD20, 항-강글리오시드 GM2, 및 항-p185(Hollander, 2012; Hanibuchi 등, 1998; 미국 특허 5,824,311)이다. 하나 이상의 항암 요법이 본원에 기재된 항체 요법과 함께 이용될 수 있는 것으로 고려된다.

[0557] 일부 구현예에서, 면역요법은 면역 체크포인트 억제제일 수 있다. 면역 체크포인트는 신호(예를 들어, 공동자극 분자)를 높이거나 신호를 낮춘다. 면역 체크포인트 차단에 의해 표적화될 수 있는 억제 면역 체크포인트에는 아데노신 A2A 수용체(A2AR), B7-H3(CD276으로도 공지됨), B 및 T 림프구 감쇠기(BTLA), 세포독성 T-림프구-연관 단백질 4(CTLA-4, CD152로도 공지됨), 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(IDO), 킬러-세포 면역글로불린(KIR), 림프

구 활성화 유전자-3(LAG3), 프로그래밍된 사멸 1(PD-1), T-세포 면역글로불린 도메인 및 뮤신 도메인 3(TIM-3) 및 T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제(VISTA)가 포함된다. 특히, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1 축 및/또는 CTLA-4를 표적화한다.

[0558] 면역 체크포인트 억제제는 약물, 예컨대 소분자, 재조합 형태의 리간드 또는 수용체일 수 있거나, 특히 항체, 예컨대 인간 항체이다(예를 들어, 국제 특허 공보 WO2015016718; Pardoll, Nat Rev Cancer, 12(4): 252-64, 2012; 둘 모두 본원에 참조로 포함됨). 면역 체크포인트 단백질 또는 이의 유사체의 공지된 억제제가 사용될 수 있으며, 특히 키메라, 인간화 또는 인간 형태의 항체가 사용될 수 있다. 당업자가 알게 되는 바와 같이, 대안적인 및/또는 동등한 명칭이 본 개시내용에서 언급된 특정 항체에 사용될 수 있다. 이러한 대안적인 및/또는 동등한 명칭은 본 개시내용의 맥락에서 상호교환 가능하다. 예를 들어, 람브롤리주맙은 또한 MK-3475 및 펨브롤리주맙의 대안적인 및 동등한 명칭으로 공지되어 있는 것으로 공지되어 있다.

[0559] 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1이 이의 리간드 결합 파트너에 결합하는 것을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PD-1 리간드 결합 파트너는 PDL1 및/또는 PDL2이다. 또 다른 구현예에서, PDL1 결합 길항제는 PDL1이 이의 결합 파트너에 결합하는 것을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PDL1 결합 파트너는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또 다른 구현예에서, PDL2 결합 길항제는 PDL2가 이의 결합 파트너에 결합하는 것을 억제하는 분자이다. 특정 양태에서, PDL2 결합 파트너는 PD-1이다. 길항제는 항체, 이의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신(immunoadhesin), 융합단백질, 또는 올리고펩티드일 수 있다. 예시적인 항체는 미국 특허 번호 US8735553, US8354509 및 US8008449에 기재되어 있으며, 이들 모두 본원에 참조로 포함된다. 본원에 제공된 방법에 사용하기 위한 다른 PD-1 축 길항제는 당업계에 공지되어 있고, 예컨대 미국 특허 출원 번호 US20140294898, US2014022021, 및 US20110008369에 기재되어 있으며, 이들 모두는 본원에 참조로 포함된다.

[0560] 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체(예를 들어, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체)이다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙, 펨브롤리주맙 및 CT-011로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 이뮤노어드헤신(예를 들어, 불변 영역(예를 들어, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PDL1 또는 PDL2의 세포외 또는 PD-1 결합 부분을 포함하는 이뮤노어드헤신)이다. 일부 구현예에서, PD-1 결합 길항제는 AMP-224이다. MDX-1106-04, MDX-1106, ONO-4538, BMS-936558 및 OPDIVO®로도 공지된 니볼루맙은 WO2006/121168에 기재된 항-PD-1 항체이다. MK-3475, Merck 3475, 람브롤리주맙, KEYTRUDA®, 및 SCH-900475로도 공지된 펨브롤리주맙은 WO2009/114335에 기재된 항-PD-1 항체이다. hBAT 또는 hBAT-1로도 공지된 CT-011은 WO2009/101611에 기재된 항-PD-1 항체이다. B7-DCIg로도 공지된 AMP-224는 WO2010/027827 및 WO2011/066342에 기재된 PDL2-Fc 융합 가용성 수용체이다.

[0561] 본원에 제공된 방법에서 표적화될 수 있는 또 다른 면역 체크포인트는 CD152로도 공지된 세포독성 T-림프구-연관 단백질 4(CTLA-4)이다. 인간 CTLA-4의 완전한 cDNA 서열은 Genbank 수탁 번호 L15006을 갖는다. CTLA-4는 T 세포의 표면 상에서 발견되며, 항원-제시 세포의 표면 상의 CD80 또는 CD86에 결합될 때 "오프(off)" 스위치로서 작용한다. CTLA4는 헬퍼 T 세포의 표면 상에 발현되어 T 세포에 억제 신호를 전달하는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 구성원이다. CTLA4는 T-세포 공동자극 단백질인 CD28과 유사하고, 분자 둘 모두는 항원-제시 세포 상의 각각 B7-1 및 B7-2로도 지칭되는 CD80 및 CD86에 결합한다. CTLA4는 T 세포에 억제 신호를 전달하는 반면, CD28은 자극 신호를 전달한다. 세포내 CTLA4는 또한 조절 T 세포에서 발견되며 이들의 기능에 중요할 수 있다. T 세포 수용체 및 CD28을 통한 T 세포 활성화는 B7 분자에 대한 억제 수용체인 CTLA-4의 증가된 발현을 유도한다.

[0562] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 항체(예를 들어, 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체), 이의 항원 결합 단편, 이뮤노어드헤신, 융합 단백질, 또는 올리고펩티드이다.

[0563] 본 발명의 방법에 사용하기에 적합한 항-인간-CTLA-4 항체 (또는 이로부터 유래된 VH 및/또는 VL 도메인)는 당업계에 널리 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 기술분야에서 인식된 항-CTLA-4 항체를 사용할 수 있다. 예를 들어, US 8,119,129, WO 01/14424, WO 98/42752; WO 00/37504(CP675,206, 트레멜리무맙으로도 공지되어 있음; 이전의 티실리무맙), 미국 특허 번호 6,207,156; Hurwitz 등 (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95(17): 10067-10071; Camacho 등 (2004) J Clin Oncology 22(145): 요약 번호 2505(항체 CP-675206); 및 Mokyr 등 (1998) Cancer Res 58:5301-5304에 개시된 항-CTLA-4 항체는 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. 전술된 간행물 각각의 교시는 본원에 참조로 포함된다. CTLA-4에 대한 결합에 대해 본 기술분야에서 인식된 항체 중 임의의 것과 경쟁하는 항체가 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간화 CTLA-4 항체는 국제 특허 출원 번호 WO2001014424, WO2000037504 및 미국 특허 번호 8,017,114에 기재되어 있으며, 이들 모두 본원에 참조로 포함된다.

[0564] 예시적인 항-CTLA-4 항체는 이필리무맙(10D1, MDX-010, MDX-101 및 Yervoy®로도 공지됨) 또는 이의 항원 결합 단편 및 변이체(예를 들어, WO 01/14424 참조)이다. 다른 구현예에서, 항체는 이필리무맙의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 VR을 포함한다. 따라서, 일 구현예에서, 항체는 이필리무맙의 VH 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 이필리무맙의 VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 항체는 상기 언급된 항체와 동일한 CTLA-4 상의 에피토프와의 결합에 대해 경쟁하고/하거나 이에 결합한다. 또 다른 구현예에서, 항체는 상기 언급된 항체와 적어도 약 90%의 가변 영역 아미노산 서열 동일성(예를 들어, 이필리무맙과 적어도 약 90%, 95% 또는 99%의 가변 영역 동일성)을 갖는다.

[0565] CTLA-4를 조절하기 위한 다른 분자는 본원에 모두 참조로 포함된 미국 특허 번호 US5844905, US5885796 및 국제 특허 출원 번호 WO1995001994 및 WO1998042752에 기재된 것과 같은 CTLA-4 리간드 및 수용체; 및 본원에 모두 참조로 포함된 미국 특허 번호 US8329867에 기재된 바와 같은 이뮤노어드헤신을 포함한다.

[0566] **D. 수술**

[0567] 암을 갖는 사람의 대략 60%는 예방, 진단 또는 단계 결정, 치유 및 완화 수술을 포함하는 일부 유형의 수술을 받을 것이다. 치유 수술은 암성 조직의 전부 또는 일부가 물리적으로 제거, 절제, 및/또는 파괴되는 절제를 포함하고, 다른 요법, 예컨대 본 구현예의 치료, 화학요법, 방사선 요법, 호르몬 요법, 유전자 요법, 면역요법, 및/또는 대체 요법과 함께 사용될 수 있다. 종양 절제는 종양의 적어도 일부를 물리적으로 제거하는 것을 지칭한다. 수술에 의한 치료에는 종양 절제 외에도 레이저 수술, 냉동수술, 전기수술, 및 현미경-제어 수술(모즈 수술) 등이 있다.

[0568] 암성 세포, 조직 또는 종양의 일부 또는 전부를 절제할 때, 체내에 공동이 형성될 수 있다. 치료는 관류, 직접 주사, 또는 추가의 항암 요법으로 부위의 국부적 적용에 의해 달성될 수 있다. 이러한 치료는 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일마다, 또는 1, 2, 3, 4, 및 5주마다, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12개월마다 반복될 수 있다. 이들 치료는 또한 다양한 투여량일 수 있다.

[0569] **E. 재조합 유전자 기술**

[0570] 본 개시내용에 따르면, 당업계의 기술 내에서 통상적인 분자 생물학, 미생물학 및 재조합 DNA 기술이 이용될 수 있다. 이러한 기술은 문헌(*예를 들어*, Sambrook, Fritsch & Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II (D. N. Glover ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed. 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985)); Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)); Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed. (1986)); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, (1986)); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); F. M. Ausubel *등* (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. (1994) 참조)에 기재된다.

[0571] 본원에 기재된 항-BCMA 항체와 같은 폴리펩티드를 암호화하는 핵산과 같은 유전자의 재조합 발현은 폴리펩티드를 암호화하는 핵산을 함유하는 발현 벡터의 작제를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, BCMA 핵산 서열은 포유류 세포 발현을 위한 코돈 최적화 서열일 수 있다. 일단 폴리뉴클레오티드가 수득되면, 폴리펩티드 생산용 벡터는 당업계에 공지된 기술을 사용하여 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 수 있다. 공지된 방법을 사용하여 폴리펩티드 코딩 서열 및 적절한 전사 및 번역 제어 신호를 함유하는 발현 벡터를 작제할 수 있다. 이들 방법은, 예를 들어, *시험관내* 재조합 DNA 기술, 합성 기술, 및 *생체내* 유전자 재조합을 포함한다.

[0572] 발현 벡터는 통상적인 기술에 의해 숙주 세포에 전달될 수 있고, 이어서 형질감염된 세포는 통상적인 기술에 의해 배양되어 폴리펩티드를 생산할 수 있다. 본원에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허, 및 다른 참고문헌은 그 전문이 참조로 포함된다. 또한, 재료, 방법 및 예는 단지 예시적이며, 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 달리 정의하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 재료가 본원에 기재되어 있다.

[0573] **F. 기타 제제**

[0574] 치료의 치료적 효능을 개선하기 위해 다른 제제가 본 구현예의 특정 양태와 조합하여 사용될 수 있는 것으로 고려된다. 이들 추가 제제는 세포 표면 수용체 및 GAP 접합부의 상향조절에 영향을 미치는 제제, 세포정지제 및

분화제, 세포 부착 억제제, 아폽토시스 유도제에 대한 과증식성 세포의 민감도를 증가시키는 제제, 또는 기타 생물학적 제제를 포함한다. GAP 접합부의 수를 증가시킴으로써 세포간 신호전달이 증가하면 이웃 과증식성 세포 집단에 대한 항-과증식성 효과가 증가할 것이다. 다른 구현예에서, 세포정지제 또는 분화제는 치료의 항-과증식성 효능을 개선하기 위해 본 구현예의 특정 양태와 조합하여 사용될 수 있다. 세포 부착 억제제는 본 구현예의 효능을 개선시키는 것으로 고려된다. 세포 부착 억제제의 예로는 국소 부착 키나아제(focal adhesion kinase; FAK) 억제제 및 로바스타틴이 있다. 아폽토시스에 대한 과증식 세포의 민감도를 증가시키는 기타 제제, 예컨대 항체 c225가 치료 효능을 개선하기 위해 본 구현예의 특정 양태와 조합하여 사용될 수 있는 것으로 추가로 고려된다.

[0575] **본 개시내용의 키트**

[0576] 본원에 기재된 임의의 조성물은 키트에 포함될 수 있다. 비-제한적인 예에서, 세포, 세포를 생산하기 위한 시약, 벡터, 및 벡터 및/또는 이의 구성요소를 생산하기 위한 시약이 키트에 포함될 수 있다. 특정 구현예에서, NK 세포는 키트에 포함될 수 있고, 이들은 (a) CD28 힌지, 선택적 사이토카인, 또는 선택적 자살 유전자를 포함하는 BCMA-CAR을 발현하거나 아직 발현하지 않을 수 있다. 이러한 키트는 세포의 조작을 위한 하나 이상의 시약을 가질 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다. 이러한 시약은 예를 들어, 소분자, 단백질, 핵산, 항체, 완충제, 프라이머, 뉴클레오티드, 염, 및/또는 이들의 조합을 포함한다. 하나 이상의 CAR, 자살 유전자 생성물, 및/또는 사이토카인을 암호화하는 뉴클레오티드가 키트에 포함될 수 있다. 모노클로날 항체를 포함하는 사이토카인 또는 항체와 같은 단백질이 키트에 포함될 수 있다. 조작된 CAR 수용체의 구성요소를 암호화하는 뉴클레오티드가 키트에 포함될 수 있으며, 이는 생성하기 위한 시약을 포함한다.

[0577] **실시예**

[0578] 다음 실시예는 본 발명의 특정 구현예를 입증하기 위해 포함된다. 다음 실시예에 개시된 기술은 본 발명의 실시에서 잘 기능하기 위해 발명자에 의해 발견된 기술을 나타내고, 따라서 이의 실시를 위한 특정 모드를 구성하는 것으로 간주될 수 있다는 것이 당업자에 의해 인식되어야 한다. 그러나, 당업자는 본 개시내용에 비추어, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 개시된 특정 구현예에서 많은 변화가 이루어질 수 있고 여전히 동일하거나 유사한 결과를 수득할 수 있음을 이해해야 한다.

[0579] ***실시예 1:*** *항-BCMA 모노클로날 항체의 생성 및 결합*

[0580] 본 실시예는 항-BCMA 항체의 특징화를 입증한다. 마우스(인간 트랜스제닉 중쇄 유전자좌 및 카파 유전자좌를 보유하는 트리아니(Trianni) 마우스, 8-10주령)를 문헌에 기재된 방법에 따라 면역화시켰다. 1차 면역화를 위해, 동등 부피의 GerbUMM을 갖는 에멀젼으로서 5㎍의 재조합 BCMA-마우스 Fc를 동물에 호크(hock) 주사하였다. 마우스를 총 10회의 부스트에 대해 3-4일마다 동일한 방식으로 면역화시켰다. 높은 항원 특이적 항체 역가를 갖는 동물에게 RNA 추출 또는 하이브리도마 융합을 위한 추가 처리를 위해 비장 및 림프절 수확 4일 전에 동일한 면역원을 사용한 사전-융합 부스트를 제공하였다.

[0581] 마우스의 비장을 단리하고, 10ml의 RPMI, 10% FBS(0.2um 여과됨)를 함유하는 50ml 튜브로 옮기고, 물리적으로 해리되어 림프구를 단리하였다. 림프구를 1200rpm에서 10분 동안 원심분리하여 수확하였다. 림프구를 EasySep 완충제(2ml; 0.2um 여과됨)에 현탁시켰다.

[0582] 항-BCMA scFv를 면역화된 scFv 파지 디스플레이 라이브러리의 생성 및 선택에 의해 식별하였다. 첫째, 총 RNA를 BCMA 발현 CHO 세포로 사전 면역화된 한 마리의 개별 마우스로부터의 비장세포의 단일-세포 현탁액으로부터 정제하였다. 그런 다음, 마우스로부터, 주형으로서 총 RNA를 사용하여 무작위-프라이밍된 cDNA에 의해 scFv 라이브러리를 생성하여 마우스 항체 유전자로부터 가변 영역을 증폭시켰다. 중쇄 및 카파 사슬 앰플리콘을 조합하고 파지미드 벡터로 클로닝하였다. 3회의 선별을 재조합 BCMA 단백질(인간 BCMA-Fc, 인간 BCMA-6His) 및/또는 시노몰구스 BCMA를 발현하는 세포에 대해 수행하여 BCMA-특이적 scFv 파지 클론을 식별하였다. 그런 다음, 선택된 scFv 클론의 원형질막주위(periplasmic) 추출물을 ELISA 또는 유동 세포측정법에 의해 스크리닝하였다. 클론을 시퀀싱을 위해 선택하고 원형질막주위 추출물을 사용하여 Octet에 의해 결합을 확인하였다. 총 19개의 클론을 파지 디스플레이를 통해 식별하였다. 19개의 클론 외에, BCMA 항체의 다른 42개의 새롭게 식별된 클론을 항체 선택에 적용하였다. 표 2는 인간 BCMA에 대한 인간 BCMA scFv의 결합 친화도를 나타낸다.

[0583] <u>Octet 분석</u>

[0584] Octet 결합 분석을 수행하여 BCMA와의 결합 동역학을 평가하였다.

[0585] Octet 결합 검정을 결합 특징화에 대한 항-BCMA 클론의 패널을 갖는 인간 BCMA 단백질을 사용하여 수행하였다. 인간 BCMA를 먼저 적절하게 코팅된 Octet 센서 팁 상에 포획한 다음, 회합을 위해 항-BCMA 클론을 함유하는 웰 내에 위치시켰다. 센서 팁을 해리 웰에 위치시킨 후, 상호작용의 반응을 각각의 항-BCMA 클론 및 상응하는 인간 BCMA 단백질에 대해 계산하였다.

[0586] FACS 분석

[0587] 항-BCMA 클론을 BCMA 과발현 CHO 세포를 사용하는 FACS에 의해 온-세포(on-cell) 결합에 대해 테스트하였다. 세포를 항-BCMA 클론과 함께 인큐베이션하고 후속적으로 항-BCMA 클론에 결합할 수 있는 2차 항체와 함께 인큐베이션하였다. 이들 샘플을 적절히 세척하고, Attune NxT 유동 세포측정기(Thermo Fisher Scientific) 상에서 평가하였다. FACS 분석을 FlowJo에서 수행하였다.

[0588] 표 3은 예시적인 항-BCMA 항체 및 인간 BCMA에 대한 예시적인 항-BCMA 클론의 Octet 및 FACS 분석의 결과를 나타낸다. 예시적인 Fab(IgG)는 낮은 피코몰 범위의 K_D 값을 갖는 높은 k_{on} 속도 및 낮은 k_{off} 속도를 갖는 것으로 관찰되었다.

[0589] **표 3**: 원형질막주위 추출물로부터 파지 디스플레이에 의해 생성된 scFv의 Octet 분석.

PE ELISA Bio-huBCMA-His	PE Elisa Bio-cyBCMA-His	PE FACS% 결합 Hu BCMA	PE Octet K_{off}	VH HCDR 서열은 밑줄 쳐짐	VL 서열 LCDR 서열은 밑줄 쳐짐
1.104	0.147	89.01	3.69E-04	QITLRESGGDVVQP GRSLRLSCAASGFTF SSYAIHWVRQAPGK GLEWVAVTWHDGS NKYYAESVMGRFTI SRDNSKNTLYLHM NSLRAEDTGVYYCA RAKFGEPQYFQHW GQGTLVTVSS (서열번호: 26)	DIVMTQSPSFLSASV GDRVTITCRASQGIS SYLAWYQQKPGKA PKLLIYAASTLQSGV PSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPEDFATYYC QQLNSYPWTFGQG TKVDIK (서열번호: 23)
1.112	0.122	54.65	4.40E-04	QITLRESGGDVVQP GRSLRLSCAASGFTF SSYAIHWVRQAPGK GLEWVAVTWHDGS NKYYAESVMGRFTI SRDNSKNTLYLHM NSLRAEDTGVYYCA RAKFGEPQYFQHW GQGTLVTVSS (서열번호: 26)	DIVMTQSPSFLSASV GDRVTITCRASQGI NNYLAWYQQKPGI APKLLIYAASTLQSG VPSRFGGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYYC QQLKSYPFTFGPGTK VEIK (서열번호: 25)
0.516	0.126	47.16	4.39E-04	EVQLVESGGDVVQP GRSLRLSCAASGFTF SSYAIHWVRQAPGK GLEWVAVTWHDGS NKYYAESVMGRFTI SRDNSKNTLYLHM NSLRAEDTGVYYCA RAKFGEPQYFQHW GQGTTVTVSS (서열번호: 10)	DIVMTQSPSFLSASV GDRVTITCRASQGIS SYLAWYQQKPGKA PKLLIYAASTLQSGV PSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPEDFATYYC QQLNSYPFTFGPGT KVDIK (서열번호: 27)

[0590]

[0591] **표 4**: 2개의 주요 항-BCMA 클론의 Octet 및 FACS 분석.

샘플	hBCMA-mIgG2a				hBCMA-HIS 항원				hBCMA CHO
	반응	K_D (M)	k_{on}(1/Ms)	k_{dis}(1/s)	반응	K_D (M)	k_{on}(1/Ms)	k_{dis}(1/s)	EC50 μg/ml
VH: 서열번호: 26, VL: 서열번호: 25 **Ab 2**	0.62	1.17E-11	3.79E+05	4.44E-06	1.296	7.88E-11	4.79E+05	3.77E-05	0.144
VH: 서열번호: 10, VL: 서열번호: 27 **Ab 3**	0.5813	<1.0E-12	3.08E+05	<1.0E-07	1.3007	6.08E-11	2.19E+05	1.33E-05	0.1167

[0592]

[0593] ***실시예 2**: 키메라 항원 수용체의 작제물*

[0594] 본 실시예는 종양 부담을 감소시키기 위한 예시적인 CAR 작제물을 나타낸다. **도 1**은 BCMA 결합제 영역을 포함하는 CAR 작제물을 나타낸다.

[0595] BCMA CAR은 항-BCMA 특이적 결합제, IgG1 힌지 또는 CD28 힌지, CD28 막횡단 도메인 및 IL-15 사이토카인(예를 들어, 가용성 IL-15)을 포함한다. 이러한 CAR은 서열번호: 45, 서열번호: 47, 또는 서열번호: 49의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0596] ***실시예 3**: BCMA IgG 힌지 및 BCMA CD28 힌지 CAR 작제물의 시험관내 효능*

[0597] 본 실시예는 CD28 힌지 도메인을 포함하는 BCMA CAR의 효능을 CB-NK 세포에서 IgG 힌지 도메인과 비교하여 서열번호: 45로 나타낸다.

[0598] CB-NK 세포의 세포독성을 표준 4 시간 51크롬(51Cr)-방출 검정으로 평가하였다. 간략하게, 표적 세포에 51Cr을 로딩하고, 세척하고, 상이한 BCMA 특이적 scFv 결합제를 보유하는 상이한 CAR 작제물로 형질도입된 CB-NK 세포와 함께 4시간 동안 공동-배양한 후, 상청액을 제거하고, 감마 계수기를 사용하여 51Cr 수준을 측정하였다.

[0599] BCMA 결합제를 IgG1 힌지 또는 CD28 힌지 중 하나를 함유하는 CAR 백본에서 테스트하였다. 그런 다음, 이들 CAR을 CB-NK에 형질도입하고, 시험관내 사멸 효능을 크롬 방출 사멸 검정으로 테스트하였다.

[0600] 모든 작제물은 **도 2**에서 볼 수 있는 바와 같이, CD28 힌지를 함유하는 작제물, 특히 더 낮은 E:T 비율로 입증된 약간 향상된 사멸을 갖는 비형질도입된 CB-NK보다 더 높은 사멸을 나타내었다.

[0601] ***실시예 4**: 생체내 종양 부담 감소에 있어서 CD28 힌지 도메인과 IgG1 힌지 도메인의 비교.*

[0602] 본 실시예는 마우스에서 종양 부담을 감소시키기 위해 CD28 힌지와 함께 BCMA-CAR 작제물을 사용하는 이점을 예시한다.

[0603] BCMAIg1, BCMAIg2, BCMA28-1 또는 BCMA28-2를 포함하는 1천만 BCMA CAR-NK 세포(~70% CAR +ve)를 이 실험에 사용하였다. 10-12주령 암컷 NSG 마우스를 종양 접종 24시간 전에 150 cGy에서 전신 방사선 조사하였다. MM.1S-ffluc-MDA 세포를 0.5x10^^{6}/동물에서 세포의 정맥 내 접종을 위해 2.5x10^6 세포/ml의 농도로 PBS 현탁액에서 제조하였다. 생체발광 이미지를 투약 1일 전, 종양 접종 6일 후에 취하였고, 동물은 아암 당 4 또는 5마리 동물의 그룹으로의 총 플럭스를 기반으로 무작위화하였다. 동물은 종양 접종 후 0, 1 또는 9일차에 투약하였다. 관련 농도의 CAR NK 세포를 PBS에 재현탁시키고 얼음 상의 비바큠으로 작은 배치로 옮겨 CAR NK 세포 생존능력을 유지하면서 동물로의 적시 주입을 보장하였다. Xenogen IVIS에서 생물발광 이미징을 매주 수행하여 종양 진행을 모니터링하였다. 독성의 임의의 징후를 모니터링하기 위해 임상 관찰과 함께 체중을 주 3회 측정하였다. 세포 동역학 분석을 위해 (혈액의 하악(submandibular) 수집을 통해) 마이크로샘플링을 주 1회 수행하여 ddPCR 또는 유동 세포측정 분석에 의해 생체내 CAR NK 팽창을 정량화하였다. 인간 또는 연구 종점에서, 관심 연구로부터의 동물의 부검을 수행하여 병리학 평가를 위한 다양한 조직을 수득하였다.

[0604] qPCR CK의 경우, 마우스 전혈 샘플(50 μL)로부터의 게놈 DNA(gDNA)를 추출하고, RNAse A의 존재 하에 MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 키트로 정제하였다. 그런 다음, 정제된 gDNA를 CAR 작제물 및 참조 a-액틴 1(ACTA1) 유전자(인간 및 마우스 게놈 둘 모두에서의 단일 카피 유전자)의 카피 수를 동시에 결정하도록 설계된 최적화된 디지털 액적 PCR(ddPCR) 기반 듀플렉스 검정 방법으로 분석하였다. 종양의 진행을 모니터링하고 7일 간격으로 이미징하였다. **도 3**은 비처리 마우스(종양 단독) 및 비형질도입되지 않은 NK 세포(NT NK)로 처리된 마우스의 성장에 대해, CD28 힌지 도메인을 갖는 BCMA CAR과 비교하여, IgG 힌지를 갖는 BCMA-CAR로 형질도입된

제대혈 유래 NK 세포로 처리 후 마우스에서 종양의 성장을 나타낸다.

[0605] BCMA-CD28을 받은 마우스는 종양 단독 또는 NT NK와 비교하였을 때 더 낮은 종양 부담을 갖는 것으로 관찰되었다. BCMA CD28을 받은 마우스는 비-종양 부담 관련 사망에 굴복하기 전 첫 2주 이내에 BCMA IgG와 비교하여 우수한 종양 제어를 가졌다. 폐, 간 및 비장을 림프구 침윤에 대해 조사하였다. **도 8**은 정상 마우스의 폐와 BCMA28-2 CAR-NK 세포로 처리된 마우스의 폐를 비교하는 예시적인 조직병리학적 슬라이드를 나타낸다. 모든 조직을 폐의 기관 점적뿐만 아니라 침지에 의해 10% 완충 포르말린에 고정하였다. 완전히 고정되면(24-48시간), 기관을 트리밍하고 파라핀 포매(embedding)를 위해 처리하였다. 파라핀 블록을 4-6 미크론으로 절단하고, 조직 절편을 유리 슬라이드에 장착하고, 헤마톡실린 및 에오신(H&E)으로 염색하고, 커버-슬리핑하였다.

[0606] 체중의 변동은 **도 12**에 요약된다.

[0607] 병리학 평가는 위원회 인증을 받은(ECVP) 수의병리학자에 의해 수행되었다. 신생물성 병변은 검사된 기관에서의 존재에 따라 점수가 매겨졌다. 비-신생물성 병변을 중증도 및 분포도를 기반으로 점수를 매겼다. 조직병리학적 소견을 Pristima ® Software System에서 포획하였다.

[0608] **도 8**에서 볼 수 있는 바와 같이, 폐, 간 및 비장으로의 림프구 침윤이 관찰되었으며 비-종양 관련 사망의 원인인 것으로 여겨졌다. 그러나, **도 4**에서 볼 수 있는 바와 같이 100만 및 300만의 총 NK 세포로의 용량 감소는 비-종양 부담 관련 사망률 및 향상된 생존율을 유의하게 개선하였다.

[0609] ***실시예 5**: MM1s- 종양 마우스에서 공동-투약된 BCMA-CAR의 항종양 활성의 비교*

[0610] 본 실시예는 예시적인 공동-투약된 BCMA-CAR NK 세포의 항-종양 활성을 비교하였다.

[0611] 서열번호: 19 또는 20을 포함하는 100만 개의 BCMA CAR-NK 세포(~70% CAR +ve)를 마우스에서 MM1s 종양과 공동-투약하였다. 종양의 진행을 모니터링하고 6-7일 간격으로 이미징하였다. **도 5**는 BCMA28-1 또는 BCMA28-2를 포함하는 1M BCMA-NK 세포로 처리된 마우스의 생존율을 회화적 도해로 나타낸 것이다. BCMA28-1을 포함하는 CAR-NK 세포와 공동-투약된 마우스와 비교할 때, BCMA28-2와 함께 BCMA-CAR이 투약된 마우스는 종양-관련 사망률에 대해 77일차에 생존하는 마우스의 50% 초과에서 가장 잘 수행됨이 관찰되었다.

[0612] ***실시예 6**: BCMA-CAR-NK 및 BCMA-CAR-T의 지연된 투약 레지멘*

[0613] 본 실시예는 BCMA28-1이 테스트된 다른 BCMA-CAR과 비교하여 가장 잘 작동하지만, 모든 CAR 작제물이 강력한 항-종양 활성을 제공한다는 것을 입증하였다.

[0614] *CAR-T-세포 생산*:

[0615] CAR-T의 생산을 위해, 인간 백혈구성분채집 생성물(류코팩(leukopak))을 Stem cell Technologies로부터 구입하였다. PBMC를 피콜 밀도 구배를 사용하여 프레쉬 류코팩으로부터 단리하였다. Stemcell technologies로부터의 EasySep 인간 T 세포 단리 키트를 사용하여 T 세포를 정제한 다음, Miltenyi Biotec로부터의 T 세포 TransAct 비드 및 연구 등급 IL-2를 사용하여 활성화/증식시켰다. T 세포 활성화 2일차에, 세포를 스피노큘레이션(spinoculation)에 의해 VSVG 바이러스로 형질도입한 다음, 시험관내 검정을 위해 7일차에 사용하였다.

[0616] *CAR-NK 세포 생산:*

[0617] CAR-NK 생산을 위해, 연구를 위한 제대혈(CB) 유닛을 MD Anderson Cancer Center Cord Blood Bank로부터 수득하였다. CB 단핵 세포를 피콜 밀도 구배 원심분리에 의해 동결된 CB 유닛으로부터 단리하였다. 제대혈 유래 NK 세포(CB-NK 세포)의 생체외 증식은 2일마다 IL-2를 공급하는 것 외에 0일차에 uAPC 자극을 사용하였다. 6일차에, 세포를 스피노큘레이션을 사용하여 RD114 바이러스로 형질도입하였다. 세포를 8일차 또는 9일차에 uAPC의 제2 라운드 첨가로 자극하고, 15일차에 생체내 또는 시험관내 연구에 사용될 때까지 2일마다 IL-2를 공급하였다.

[0618] BCMA28-2를 포함하는 100만 또는 300만 개의 BCMA CAR-NK 세포(~70% CAR +ve)를 MM1s 종양 세포 접종("1일 지연된 투약") 후 1일차에 마우스 IV에 투여하였다

[0619] 종양의 진행을 모니터링하고 7일 간격으로 이미징하였다. **도 6**은 1일 지연된 용량 레지멘에서의 일의 함수로서 비-형질도입된 NK 세포 또는 CD28 힌지 도메인을 갖는 BCMA-CAR로 형질도입된 NK 세포로 처리된 마우스에서의 종양의 성장을 나타낸다. **도 7**은 BCMA28-2를 발현하는 NK 세포의 1-일 지연된 투약 카플란 마이어 생존 곡선을 보여준다. 유사한 실험을 BCMA28-2 CAR을 발현하는 NK 세포를 이용한 9-일 지연된 투약으로 반복하였다.

BCMA28-2 CAR-NK 세포가 종양 단독 또는 비형질감염된 NK 세포와 비교하여 연장된 생존율을 산출하는 것으로 관찰되었다.

[0620] 공동-용량으로부터 지연된 용량 설정(1 및 9일 지연된 용량)으로의 전환이 BCMA CAR-NK 치료의 양성 항-종양 영향을 계속 나타내는 것으로 관찰되었다.

[0621] ***실시예 7**: BCMA-CAR-NK 세포 중 IL-15의 분비*

[0622] 본 실시예는 1000개의 세포 당 CAR의 카피의 수 및 IL-15의 분비를 모니터링함으로써 측정된 바와 같이, 예시적인 BCMA-CAR -IL-15 작제물-형질도입된 NK 세포가 생체내에서 지속됨을 입증한다.

[0623] NSG 마우스 혈장 샘플에서 인간 IL-15의 생물분석은 Meso Scale Discovery(MSD®) 플랫폼 및 U-PLEX 인간 IL15 검정 키트(카탈로그 번호 K151URK/(BRS 20-735), 공급업체 MSD) 상에서 전기화학발광 면역검정을 사용하여 수행하였다. U-PLEX® 검정에서, 비오티닐화된 포획 항체를 먼저 U-PLEX® 플레이트 표면 상의 스트렙타비딘에 커플링시켰다. 캘리브레이터, 대조군, 및 샘플을 플레이트에 첨가하고, 실온에서 진탕하면서 인큐베이션하였다. 그런 다음, 캘리브레이터, 대조군 및 샘플에서 인간 IL-15를 포획 항체에 결합하였다. 세척 후 전기화학발광 표지(MSD GOLD SULFO-TAG)가 접합된 검출 항체를 함유하는 용액을 플레이트에 첨가하고, 이어서 또 다른 인큐베이션 기간을 수행하였다. 검출 항체와 함께 인큐베이션한 후, 플레이트를 세척하고 2X 판독 완충제를 웰에 첨가하였다. 플레이트를 MSD 섹터 이미저(Sector Imager) S600에서 즉시 판독하였다. **도 9**에서 볼 수 있는 바와 같이, 서열번호: 20의 BCMA-CAR을 발현하는 BCMA CAR-NK 세포의 강력한 용량-의존적 확장 및 IL-15 생산의 증가가 지연된 용량 설정에서 관찰되었다.

[0624] ***실시예 8**: T 세포 설정 중 다른 것들 중에서 종양 세포 사멸을 개선하기 위한 BCMA CAR 작제물의 용도*

[0625] 본 실시예는 종양 세포 사멸 활성에서 BCMA CAR 작제물(예를 들어, BCMAIg1, BCMAIg2, BCMA28-1, BCMA28-2)의 사용을 입증하였다.

[0626] T 세포 설정에서의 세포독성은 Promega's CellTiter-Glow 발광 세포 생존력 검정을 활용하여 제조사 프로토콜에 따라 평가하였다. 아폽토시스 및 미토콘드리아 손상의 분석을 위해, MM.1S-ffluc-MDA 표적 세포를 Invitrogen의 CellTracker 짙은 적색 염료로 표지하고, Sartorius의 MultiCyt 아폽토시스 키트를 사용하여 제조사 프로토콜에 따라 카스파아제 양성 및 미토콘드리아 손상을 측정하였다. 간략하게, 카스파아제 3 및 7의 활성화를 절단 시 형광을 내는 NucView 488 카스파아제-3/7 기질을 사용하여 검출하였다. 미토콘드리아 막 전위를 미토콘드리아 탈분극이 세포질로 누출될 때 세포가 형광의 감소를 나타내는 활성 막 전위와 함께 온전한 미토콘드리아의 내강 내부의 형광 소분자의 격리에 의해 결정하였다. Intellicyte의 iQue 유동 세포측정기를 사용하여 유동 세포측정 판독값을 수득하였다.

[0627] BCMA CAR 작제물(예를 들어, BCMAIg1, BCMAIg2, BCMA28-1, BCMA28-2)를 BCMA 양성 세포주 MM.1S-ffluc-MDA에 대해 인간 1차 T 세포에서 동일한 CAR 백본에서 테스트하였다.

[0628] 모든 BCMA CAR 작제물은 CD19 CAR 발현 T 세포(음성 대조군)의 사멸을 입증하였다. 또한, CD28 힌지를 활용하는 작제물은 IgG1 힌지를 함유하는 CAR 백본에서 동일한 결합제와 비교하였을 때, 세포독성, 아폽토시스 및 미토콘드리아 손상의 향상된 수준을 나타내었다. 3개의 상이한 검정 판독값에 기반한 종양 세포의 특이적 사멸을 **도 10(a-c)**에서 볼 수 있다.

[0629] ***실시예 9**: 형질감염된 CAR-NK 세포의 아폽토시스 분석*

[0630] 본 실험을 가용성 BCMA의 존재 또는 부재 하에 BCMA28-1 또는 BCMA28-2로 형질도입된 CAR-NK에서 아폽토시스를 분석하도록 설계하였다.

[0631] 아폽토시스 분석을 위해, MM.1S-ffluc-MDA 표적 세포를 Invitrogen의 CellTracker 짙은 적색 염료로 표지하고, Sartorius의 MultiCyt 아폽토시스 키트를 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 카스파아제 양성도를 측정하였다. 이펙터 세포를 ACRO Biosciences로부터 수득된 800ng/mL 가용성 재조합 BCMA의 존재 또는 부재 하에 표적 세포와 공동배양하였다. 간략하게, 카스파아제 3 및 7의 활성화를 절단 시 형광을 내는 NucView 488 카스파아제-3/7 기질을 사용하여 검출하였다. Intellicyte의 iQue 유동 세포측정기를 사용하여 유동 세포측정 판독값을 수득하였다

[0632] **도 11**에서 볼 수 있는 바와 같이, CAR-NK는 특히 높은 E:T 비율에서 800ng/mL 가용성 BCMA의 존재 하에 표적 세포에서 더 낮은 수준의 아폽토시스를 유도한다는 것이 관찰되었다.

[0633] ***실시예 10**: MM1S 종양에 대한 BCMA CAR 작제물의 생체내 효능*

[0634] 본 실시예는 MM1S 종양에 대한 CB-NK 세포에서 발현된 BCMA28-2 함유 CAR의 효능을 나타낸다.

[0635] 10-12주령 암컷 NSG 마우스를 종양 접종 24시간 전에 150 cGy에서 전신 방사선 조사하였다. MM. 1S-ffluc-MDA 세포를 $0.5x10^6$/동물에서 세포의 정맥 내 접종을 위해 PBS 현탁액에서 $2.5x10^6$ 세포/ml의 농도로 제조하였다. 생체발광 이미지는 투약 1일 전, 종양 접종 6일 후에 취하였고, 동물은 아암 당 4마리 동물의 그룹으로의 총 플럭스를 기반으로 무작위화하였다. 동물은 종양 접종 후 7일에 투약하였다. 동결제형(예를 들어, 38.6% PLASMA-LYTE A + 50% CS10 + 10% HSA + 0.8% AA + 비타민 + 30 mM 트레할로스)로 동결보존된 CAR 발현 NK 세포(즉, CAR NK)를 해동시키고, PBS 완충제를 세척 없이 마우스에 직접적으로 주사하였다. Xenogen IVIS에서 생물발광 이미징을 매주 수행하여 종양 진행을 모니터링하였다. 독성의 징후를 모니터링하기 위해 임상 관찰과 함께 체중을 주 3회 측정하였다. 세포 동역학 분석을 위해 (혈액의 하악 수집을 통해) 마이크로샘플링을 주 1회 수행하여 ddPCR 또는 유동 세포측정 분석에 의해 생체내 CAR NK 팽창을 정량화하였다. 인간 또는 연구 종점에서, 관심 연구로부터의 동물의 부검을 수행하여 독성/병리학 평가를 위한 다양한 조직을 수득하였다.

[0636] 모든 CAR 형질도입된 NK 세포는 종양 단독과 비교할 때 생존 이점을 나타내었다(**도 13**).

[0637] *CAR-NK 세포 제조*

[0638] CAR-NK 생산을 위해, 연구를 위한 제대혈(CB) 유닛은 MD Anderson Cancer Center Cord Blood Bank로부터 수득하였다. CB 단핵 세포를 피콜 밀도 구배 원심분리에 의해 동결된 CB 유닛으로부터 단리하였다. 제대혈 유래 NK 세포(CB-NK 세포)의 *생체외* 증식은 2일마다 IL-2를 공급하는 것 외에 0일차에 uAPC 자극을 사용하였다. 6일차에, 세포를 스피노큘레이션을 사용하여 RD114 바이러스로 형질도입하였다. 세포를 8일차 또는 9일차에 uAPC의 제2 라운드 첨가로 자극하고, 이들이 15일차에 생체내 또는 시험관내 연구에 사용되거나 나중의 사용을 위해 21일차에 냉동보존될 때까지 2일마다 IL-2를 공급하였다.

[0639] ***실시예 11**: 다중 종양주에 대한 BCMA CAR 작제물의 시험관내 효능*

[0640] 본 실시예는 상이한 종양 세포에 대한 CB-NK 세포에서 발현된 BCMA28-2 CAR의 효능을 나타낸다.

[0641] MM1S-Luc, RPMI-8226-Luc, JJN3-Luc 및 JJN3-Luc BCMA KO 세포를 PBS로 한 번 세척하고, 세포를 37℃에서 20분 동안 PBS에서 1:10,000 희석으로 세포 트레이서 짙은 적색 염료(Invitrogen #C34565)와 함께 250만/ml의 세포 밀도로 인큐베이션하였다. 인큐베이션이 끝나면, 20ml 세포 배양 배지를 세포에 첨가하고, 세포를 500g에서 5분 동안 스핀 다운시키고, 상청액을 제거하고, 세포를 상응하는 세포 배양 배지를 사용하여 한 번 더 세척하였다. 그런 다음, 세포를 배양 배지 중에 25만/ml로 재현탁시키고, 30㎕ul 세포를 v-바닥 384 웰 검정 플레이트의 각각의 웰에 첨가하였다(Greiner, 카탈로그: 781280). 세포를 5% CO_2를 갖는 37℃ 세포 배양 인큐베이터에서 1-2시간 동안 인큐베이션하였다. 프레쉬 이펙터 세포를 15일차에 수확하고, 세포를 사이토카인이 없는 NK 세포 배지(10% HI-FBS 및 2mM 글루타민을 갖는 CellGenix GMP SCGM)에서 한 번 세척한 다음, 10㎕l 이펙터 세포를 상이한 E:T 비율로 검정 플레이트에 첨가하였다. 표적 세포 및 이펙터 웰을 20시간 동안 공동-배양한 다음, 세포를 스핀 다운시키고, 사이토카인 방출 검정을 위해 상청액을 수집하였다. 세포를 37℃의 세포 배양 인큐베이터에서 1시간 동안 상응하는 표적 세포 배지에서 1:500으로 희석된 10㎕l 카스파아제3/7 시약(Intellicyt, 카탈로그: 91035)과 함께 인큐베이션한 다음, Sartorius iQue3 또는 Sartorius iQue 스크리너 플러스를 사용하여 FACS 분석을 위해 제출하였다. 양성 카스파아제 3/7 염색을 갖는 표적 세포의 백분율을 이펙터 세포의 세포독성을 보고하기 위해 사용하였다.

[0642] (**도 14a-d**에 볼 수 있는 바와 같이) *시험관내* 사멸 활성을 다중 종양 세포주에 대해 상이한 CBU 공여자-유래 BCMA28-2 CAR 작제물-함유 NK 세포에 의해 입증하였다.

[0643] ***실시예 12**. 다중 회수의 재자극으로 시험관내에서 종양 세포를 사멸시키는 BCMA CAR NK 세포의 능력*

[0644] 본 실시예는 CB-NK 세포에서 발현된 BCMA28-2 CAR의 효능을 나타내었다.

[0645] 이펙터 세포를 수확하고, 10% 열 비활성화된 FBS(Sigma, 카탈로그 번호:F4135-500mL), 1% L-글루타민(Gibco, 카탈로그 번호:25030-081), 1% 펜 스트렙(Gibco, 카탈로그 번호:15140-122) 및 100IU/mL 인간 IL-2(Miltenyi, 카탈로그 번호:130-097-748)가 보충된 SCGM(CellGenix, 카탈로그 번호:20802-0500)에 재현탁시켰다. 이펙터 세포를 2e5세포/웰(MM1S 모델)의 밀도로 48 웰 편평 바닥 비-조직 배양 처리 플레이트(Corning, 카탈로그 번호:3548) 내로 삼중으로 씨딩하였다. 이전에 NucLight 레드 렌티바이러스(Sartorius, 카탈로그 번호:4476)로 형

질도입되고 1μg/mL 퓨로마이신(Sigma, 카탈로그 번호:P8833-10MG)으로 선택된 표적 세포를 수확하고, 상기 기재된 완전한 배지에 재현탁시키고, 5e4세포/웰의 밀도로 씨딩하였다. 플레이트를 IncuCyte S3(Sartorius Inc.)에 놓고, 웰 당 사중 판독값을 30분마다 10X 대물렌즈를 사용하여 명시야 및 레드 채널 둘 모두에서 측정하였다. 표적 세포를 상기 기재된 바와 같이 제조하고, 총 9개의 종양 자극/재공격(rechallenge)에 대해 48-72시간마다 (MM1S 모델) 5e4세포/웰의 밀도로 재씨딩하였다. 표적 세포 세포용해를 이미지당 평균 적색 객체 수(**도 15a**) 및 적색 객체 수의 곡선 아래의 총 평균 면적(**도 15b**)으로서 제시하였다.

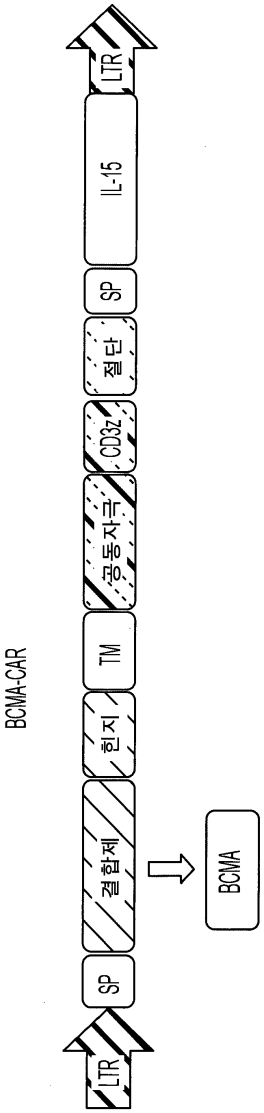
[0646] ***실시예 13**: RPMI-8226 종양에 대한 BCMA CAR 작제물의 생체내 효능*

[0647] 10-12주령 암컷 NSG 마우스를 종양 접종 24시간 전에 150 cGy에서 전신 방사선 조사하였다. RPMI-8226-luc 세포를 $0.5x10^6$/동물의 정맥 내 접종을 위해 PBS 현탁액에서 $2.5x10^6$ 세포/ml의 농도로 제조하였다. 생체발광 이미지는 투약 1일 전, 종양 접종 6일 후에 취하였고, 동물은 아암 당 4마리 동물의 그룹으로의 총 플럭스를 기반으로 무작위화하였다. 동물은 종양 접종 후 7일에 투약하였다. 관련 농도의 CAR 발현 NK 세포를 PBS에 재현탁시키고, 얼음 상의 비바륨으로 작은 배치로 옮겨 CAR 발현 NK 세포 생존능력을 유지하면서 동물로의 적시 주입을 보장하였다. Xenogen IVIS에서 생물발광 이미징을 매주 수행하여 종양 진행을 모니터링하였다. 독성의 임의의 징후를 모니터링하기 위해 임상 관찰과 함께 체중을 주 3회 측정하였다. 세포 동역학 분석을 위해 (혈액의 하악 수집을 통해) 마이크로샘플링을 주 1회 수행하여 ddPCR 또는 유동 세포측정 분석에 의해 생체내 CAR NK 팽창을 정량화하였다.

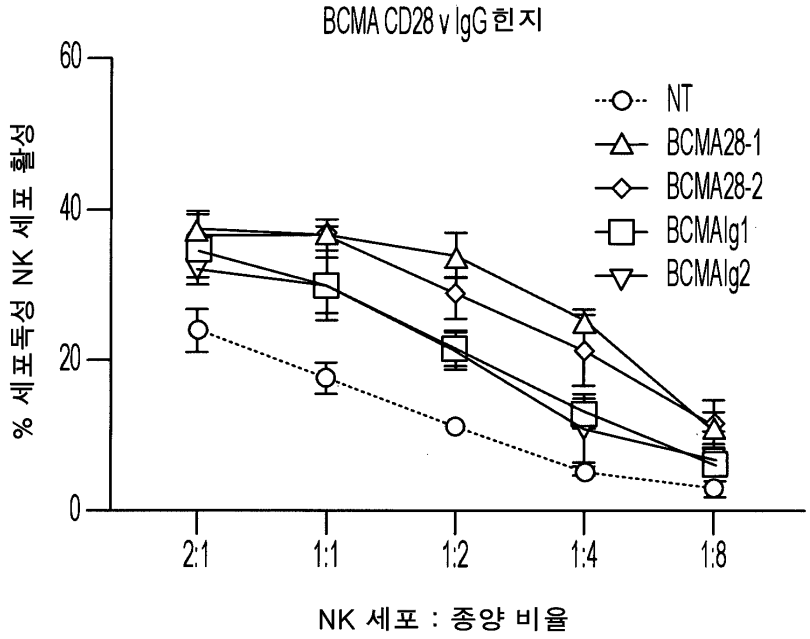
[0648] (CD28 공동자극 도메인을 갖는) BCMA28-2-CAR NK 처리군을 UTD NK와 비교하여 항-종양 활성을 입증하였다(**도 16**).

도면

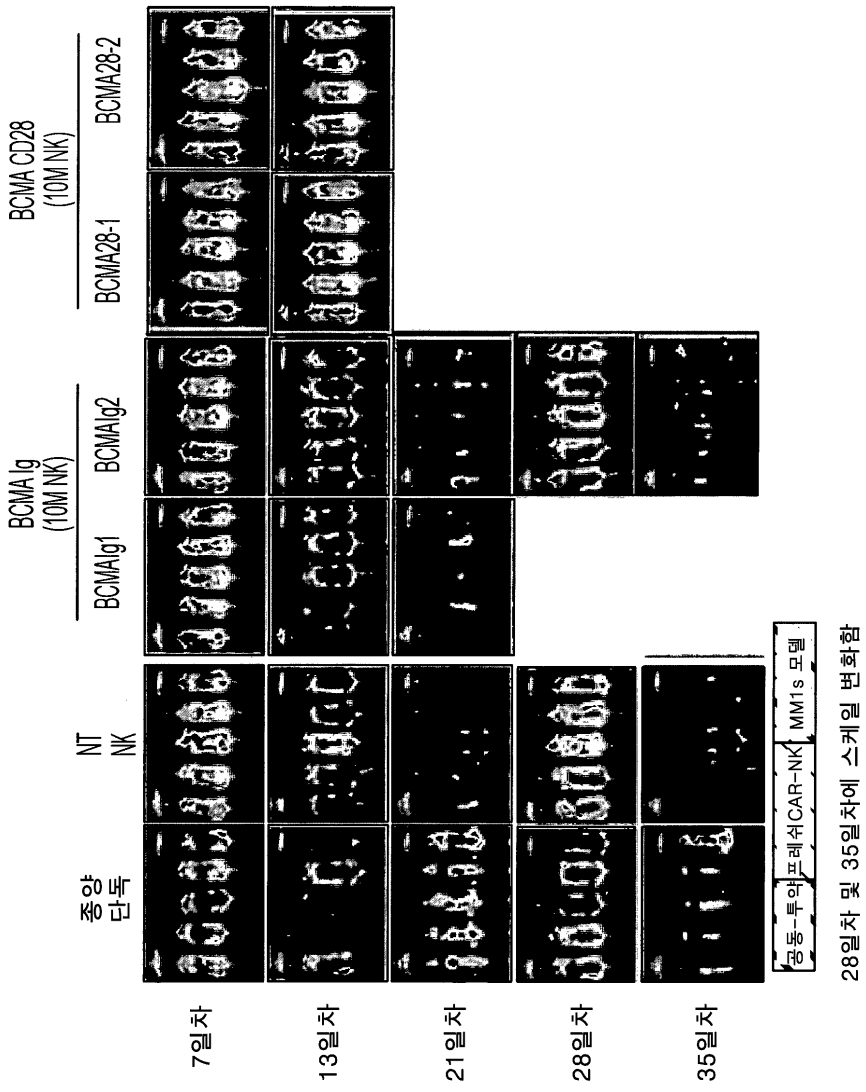
도면1



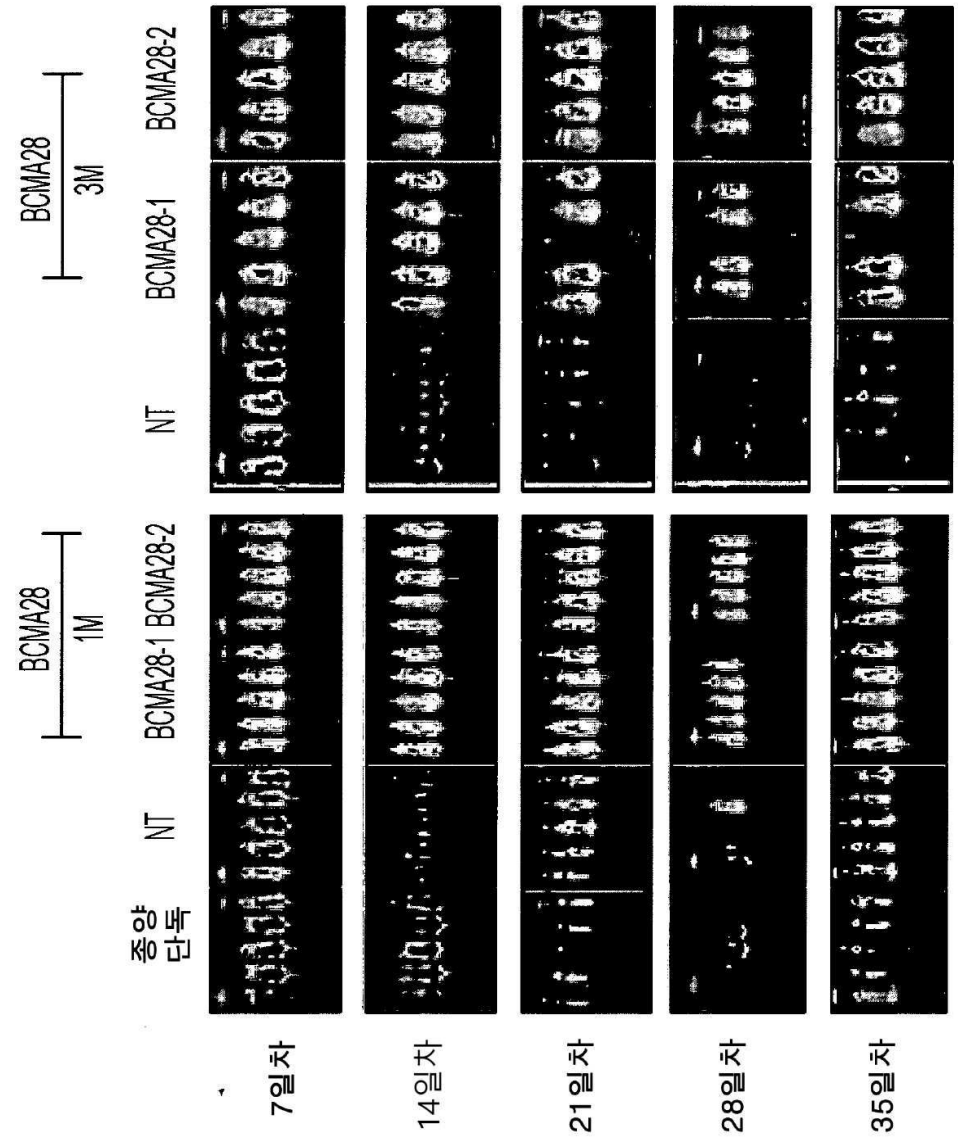
도면2


BCMA CD28 v IgG 힌지
% 세포독성 NK 세포 활성
60
40
20
0
2:1
1:1
1:2
1:4
1:8
NK 세포 : 종양 비율
NT
BCMA28-1
BCMA28-2
BCMAIg1
BCMAIg2

도면3


종양 단독
NT NK
BCMA Ig (10M NK)
BCMAIg1
BCMAIg2
BCMA CD28 (10M NK)
BCMA28-1
BCMA28-2
7일차
13일차
21일차
28일차
35일차
공동-투여 프레쉬CAR-NK
MM1s 모델
28일차 및 35일차에 스케일 변화함

도면4

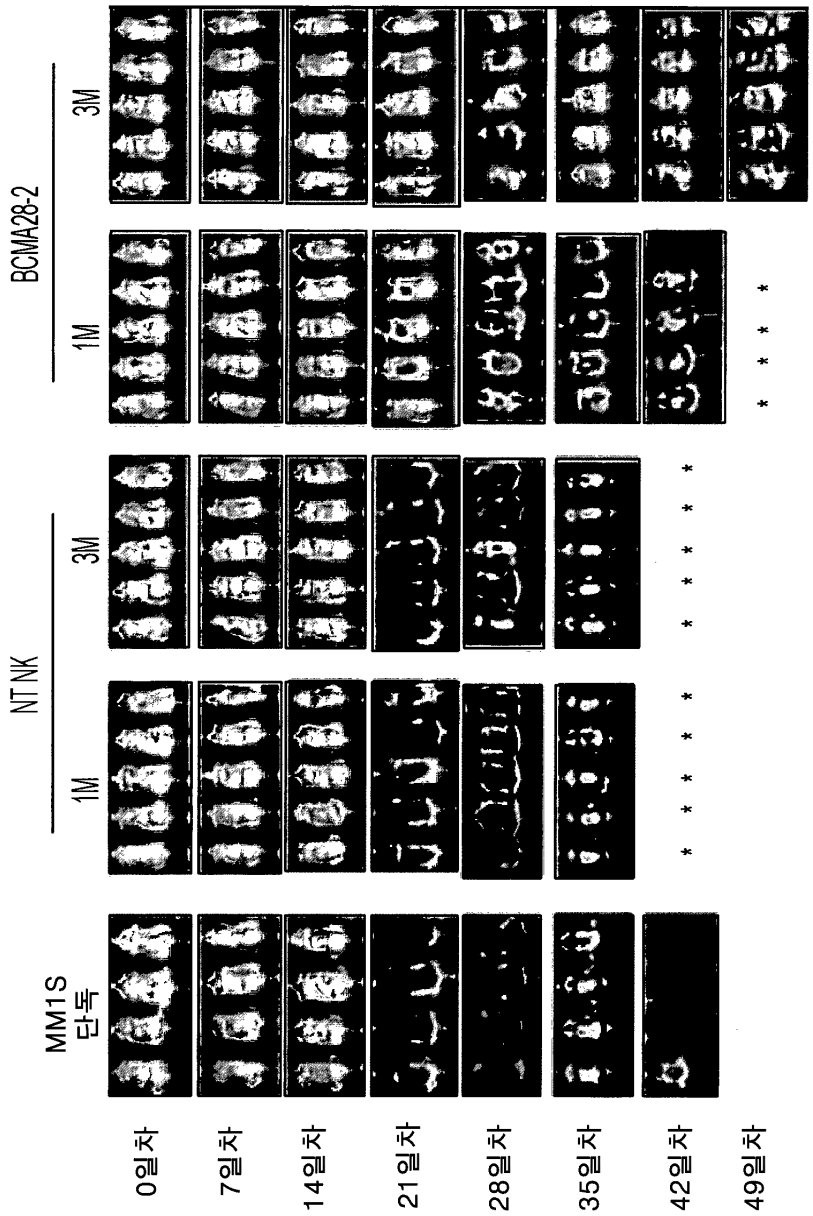

BCMA28
1M
BCMA28
3M
종양
단독
NT
BCMA28-1
BCMA28-2
NT
BCMA28-1
BCMA28-2
7일차
14일차
21일차
28일차
35일차

도면5

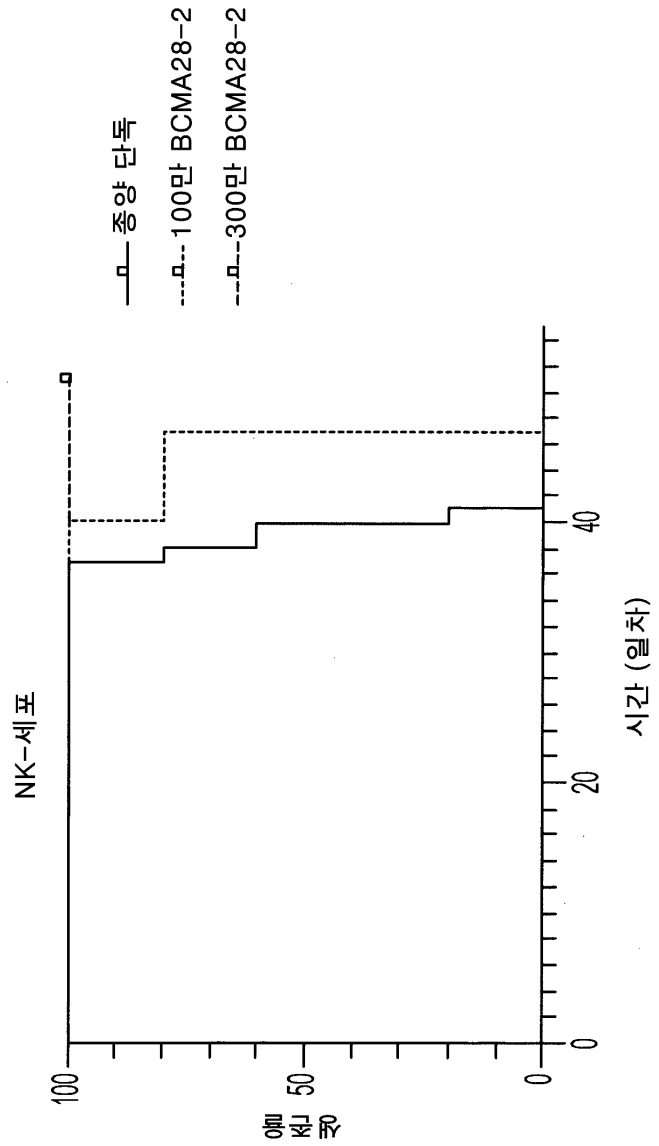


* 독성/종양 부담과 관련된 사망

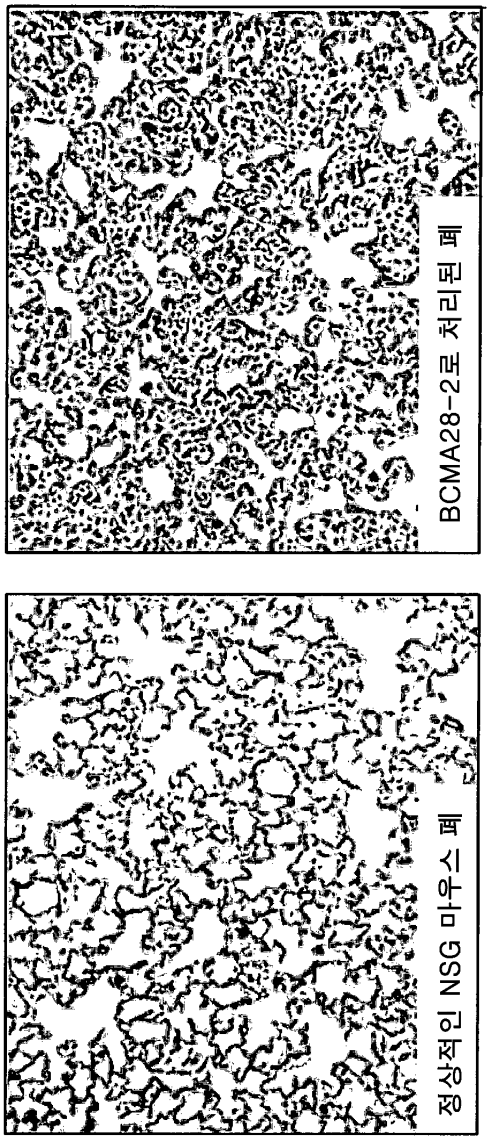
도면6


MM1S 단독
NT NK
1M
3M
BCMA28-2
1M
3M
0일차
7일차
14일차
21일차
28일차
35일차
42일차
49일차
* * * * *
* * * * *
* * * *

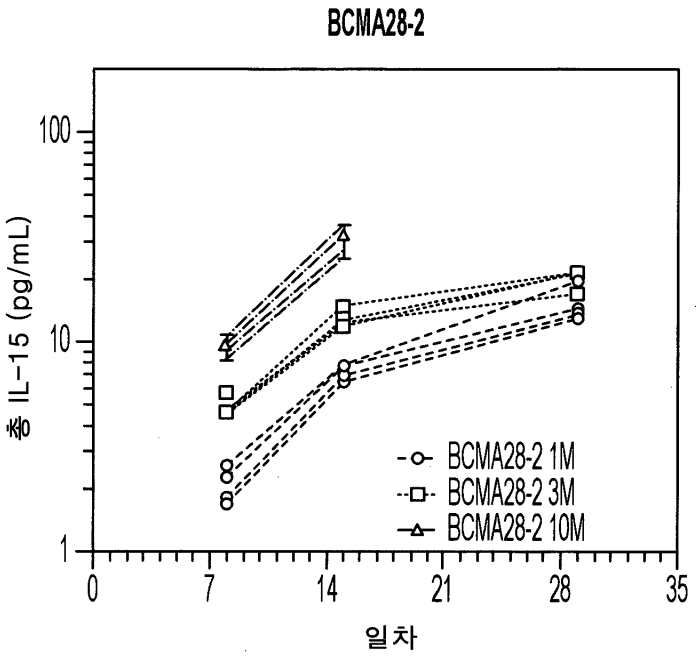
도면7



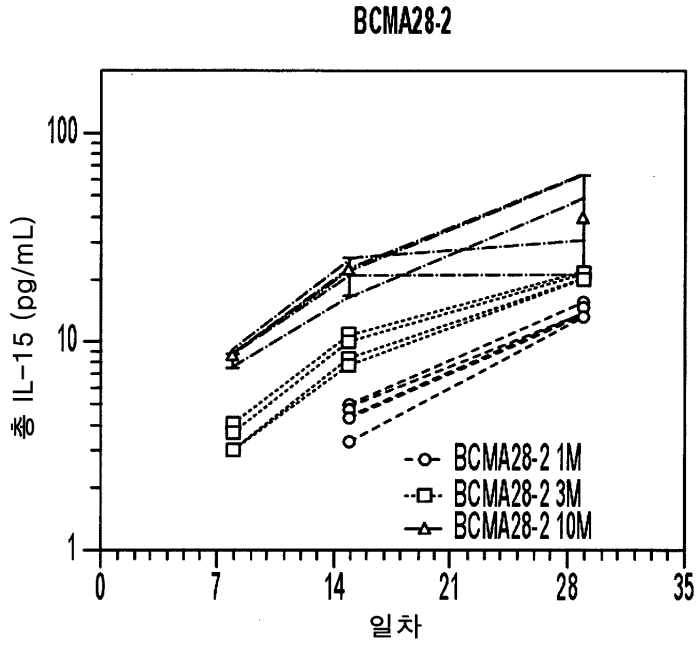
도면8



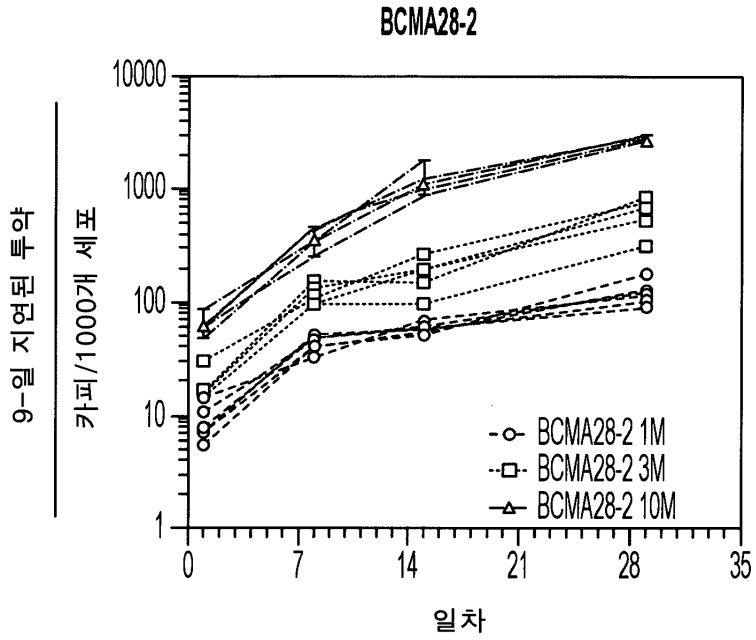
도면9a


BCMA28-2
100
10
1
혈중 IL-15 (pg/mL)
0
7
14
21
28
35
일차
BCMA28-2 1M
BCMA28-2 3M
BCMA28-2 10M

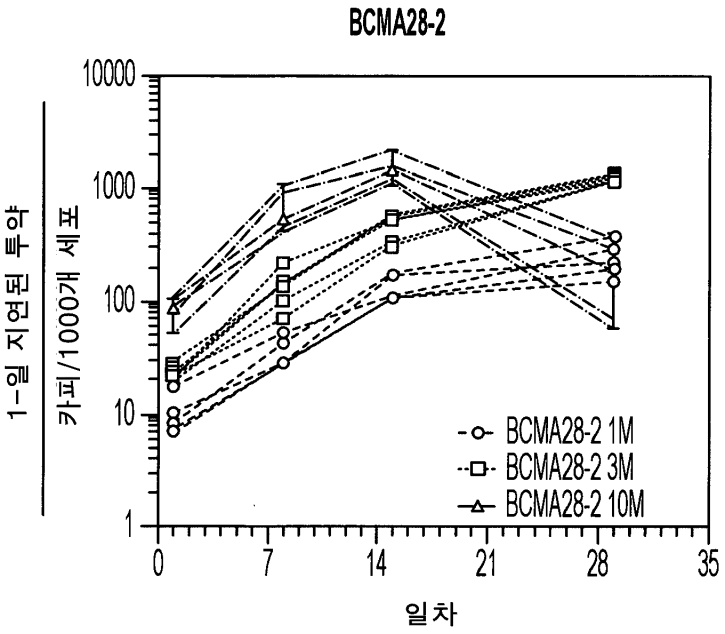
도면9b


BCMA28-2
100
10
1
혈중 IL-15 (pg/mL)
0
7
14
21
28
35
일차
BCMA28-2 1M
BCMA28-2 3M
BCMA28-2 10M

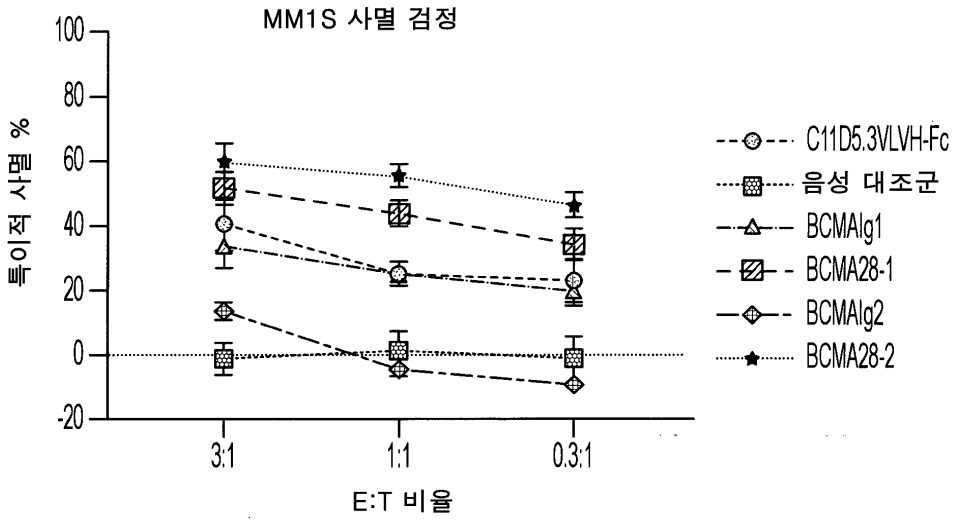
도면9c


BCMA28-2
9-일 지연된 투약
카피/1000개 세포
10000
1000
100
10
1
0
7
14
21
28
35
일차
BCMA28-2 1M
BCMA28-2 3M
BCMA28-2 10M

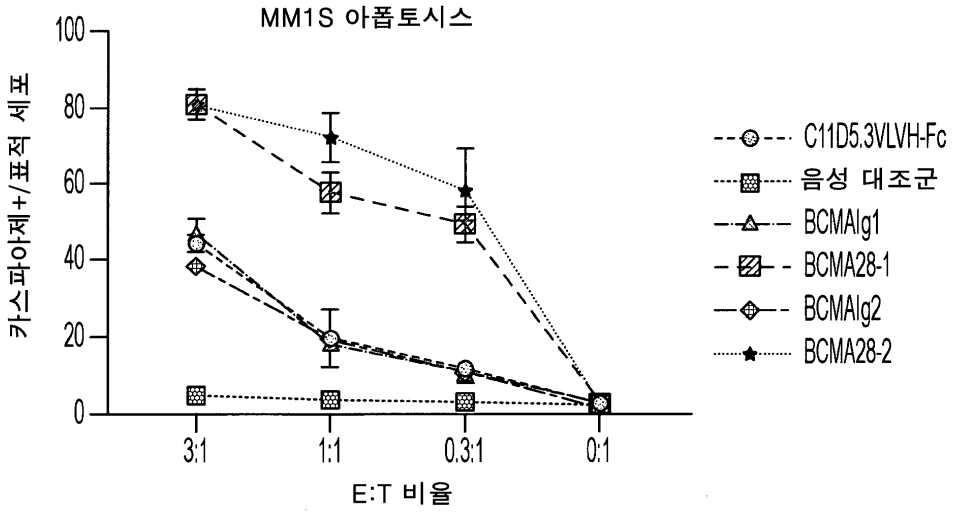
도면9d


BCMA28-2
1-일 지연된 투약
카피/1000개 세포
10000
1000
100
10
1
0
7
14
21
28
35
일차
BCMA28-2 1M
BCMA28-2 3M
BCMA28-2 10M

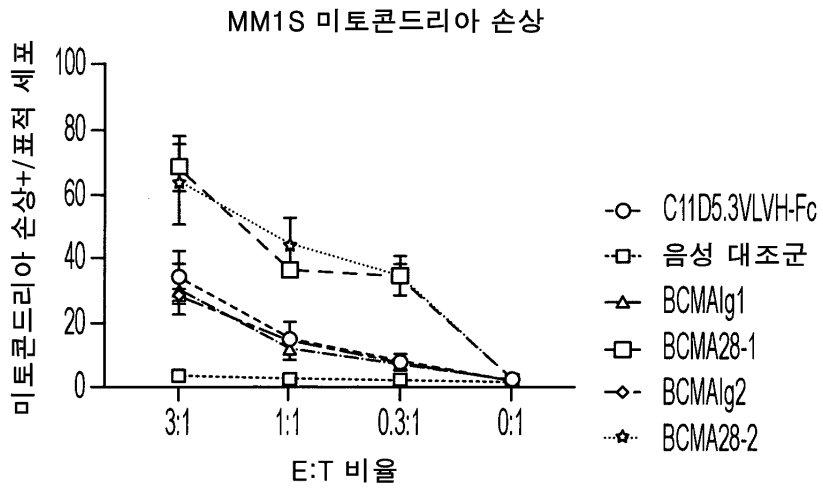
도면10a


MM1S 사멸 검정
특이적 사멸 %
100
80
60
40
20
0
-20
3:1
1:1
0.3:1
E:T 비율
C11D5.3VLVH-Fc
음성 대조군
BCMAIg1
BCMA28-1
BCMAIg2
BCMA28-2

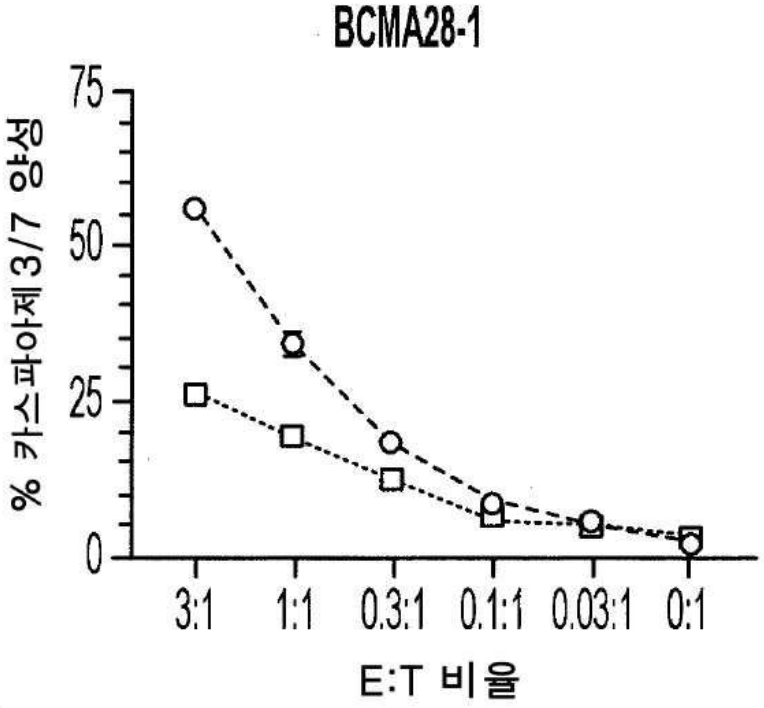
도면10b


MM1S 아폽토시스
카스파아제+/표적 세포
100
80
60
40
20
0
3:1
1:1
0.3:1
0:1
E:T 비율
C11D5.3VLVH-Fc
음성 대조군
BCMAIg1
BCMA28-1
BCMAIg2
BCMA28-2

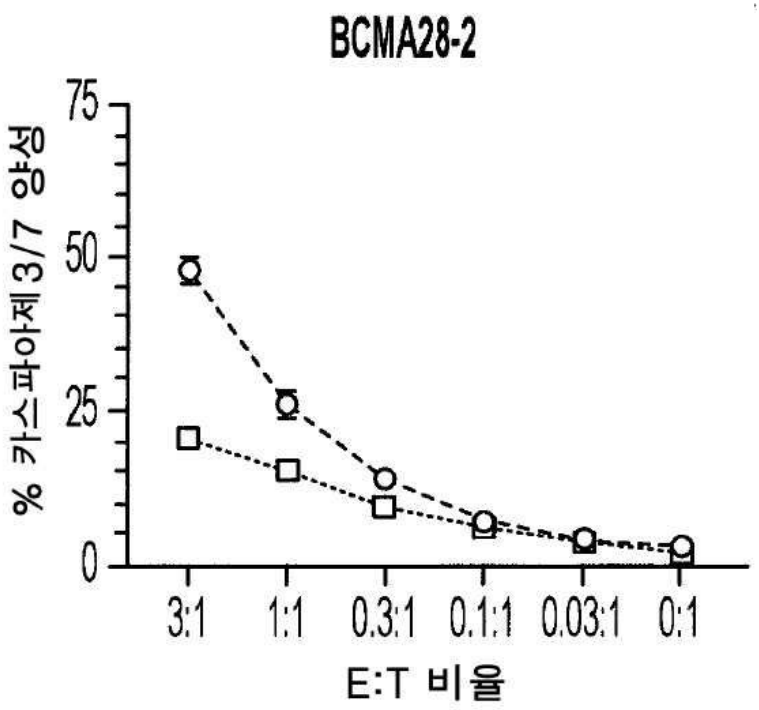
도면10c


MM1S 미토콘드리아 손상
미토콘드리아 손상+/표적 세포
100
80
60
40
20
0
3:1
1:1
0.3:1
0:1
E:T 비율
C11D5.3VLVH-Fc
음성 대조군
BCMAIg1
BCMA28-1
BCMAIg2
BCMA28-2

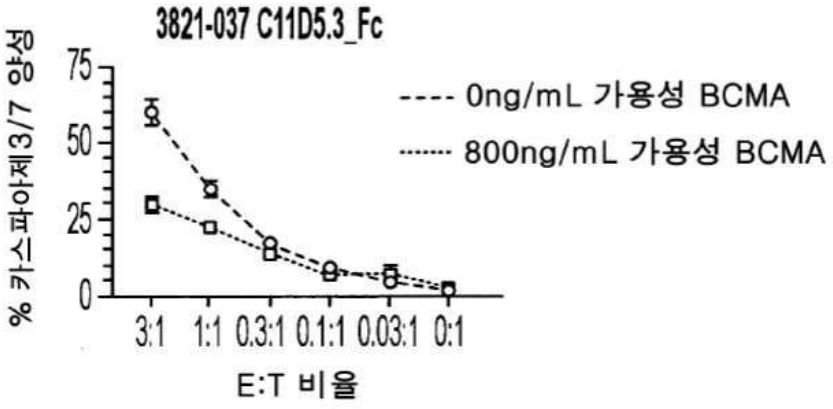
도면11a


BCMA28-1
% 카스파아제 3/7 양성
75
50
25
0
3:1
1:1
0.3:1
0.1:1
0.03:1
0:1
E:T 비율

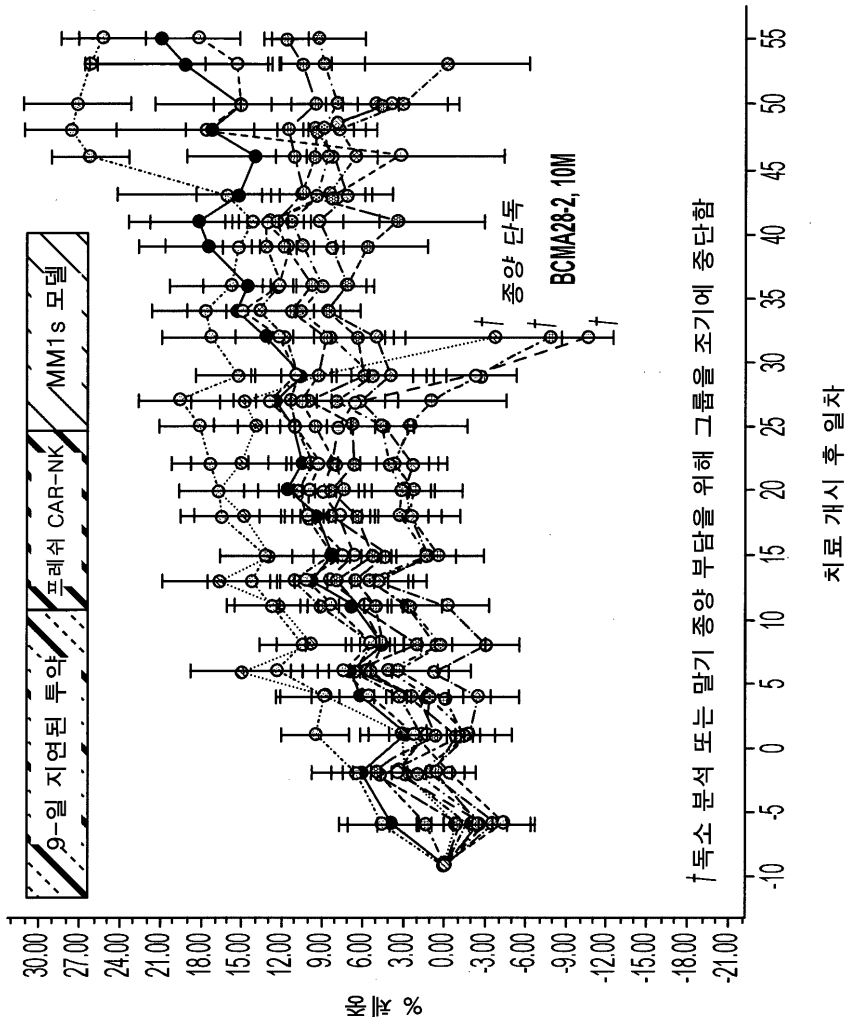
도면11b


BCMA28-2
% 카스파아제 3/7 양성
75
50
25
0
3:1
1:1
0.3:1
0.1:1
0.03:1
0:1
E:T 비율

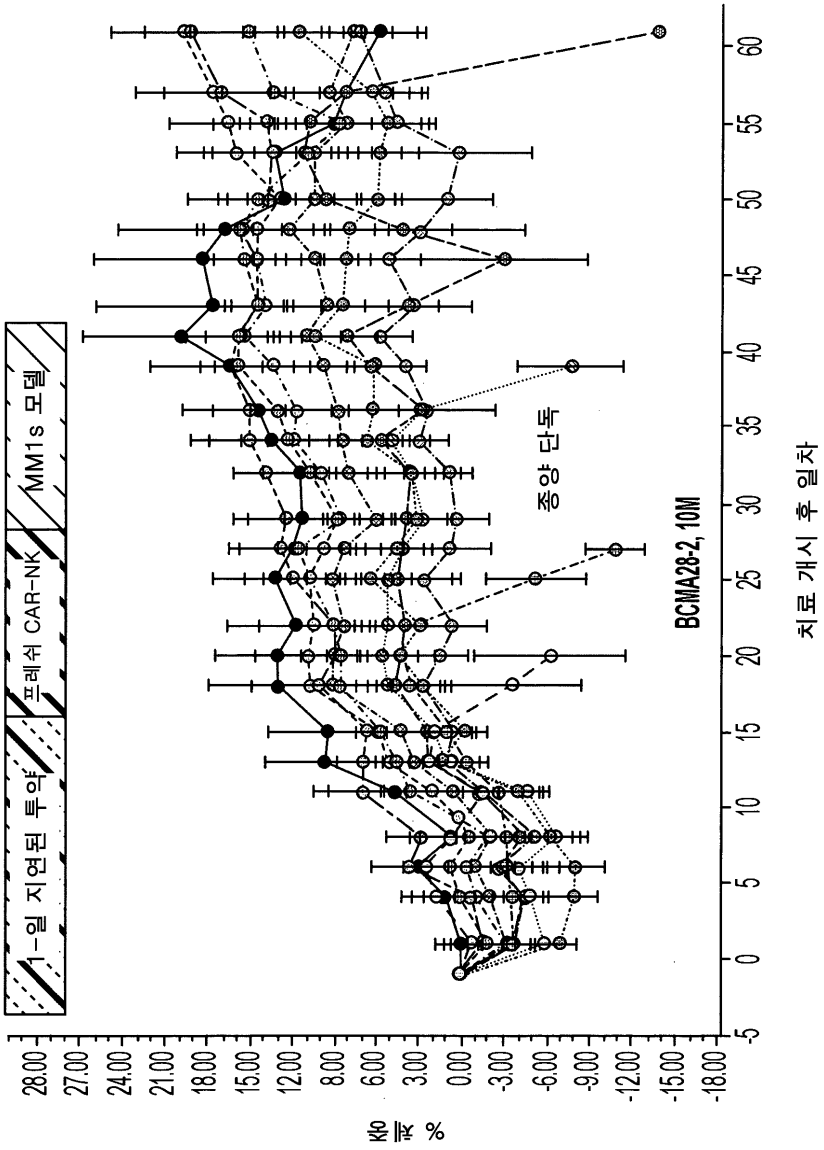
도면11c


3821-037 C11D5.3_Fc
% 카스파아제 3/7 양성
75
50
25
0
3:1
1:1
0.3:1
0.1:1
0.03:1
0:1
E:T 비율
0ng/mL 가용성 BCMA
800ng/mL 가용성 BCMA

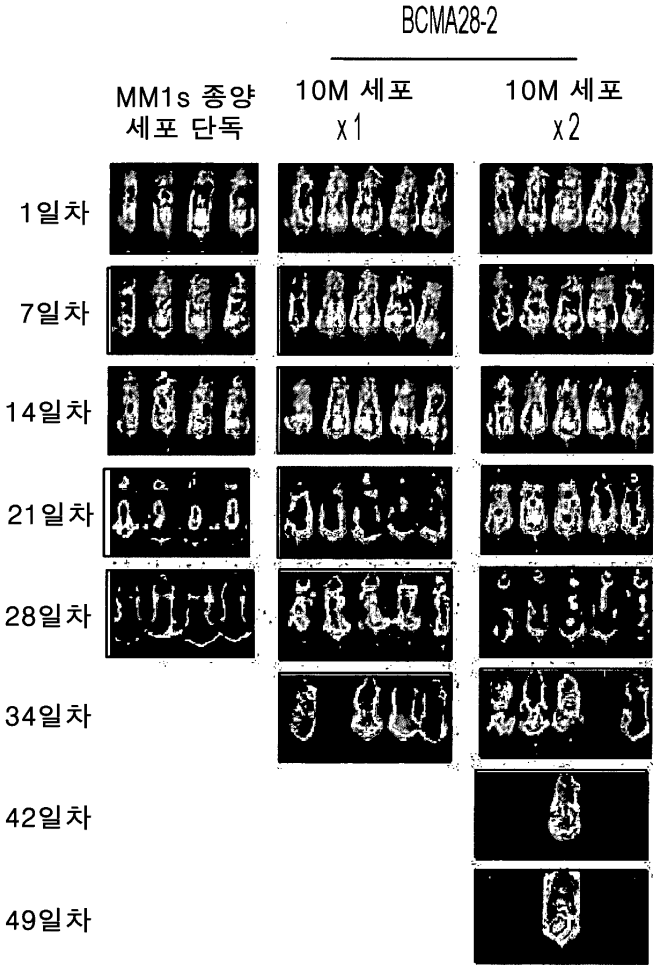
도면12a


9-일 지연된 투약
프레쉬 CAR-NK
MM1s 모델
종양 단독
BCMA28-2, 10M
†독소 분석 또는 말기 종양 부담을 위해 그룹을 조기에 중단함
치료 개시 후 일차
종양 부피 %
30.00
27.00
24.00
21.00
18.00
15.00
12.00
9.00
6.00
3.00
0.00
-3.00
-6.00
-9.00
-12.00
-15.00
-18.00
-21.00
-10
-5
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

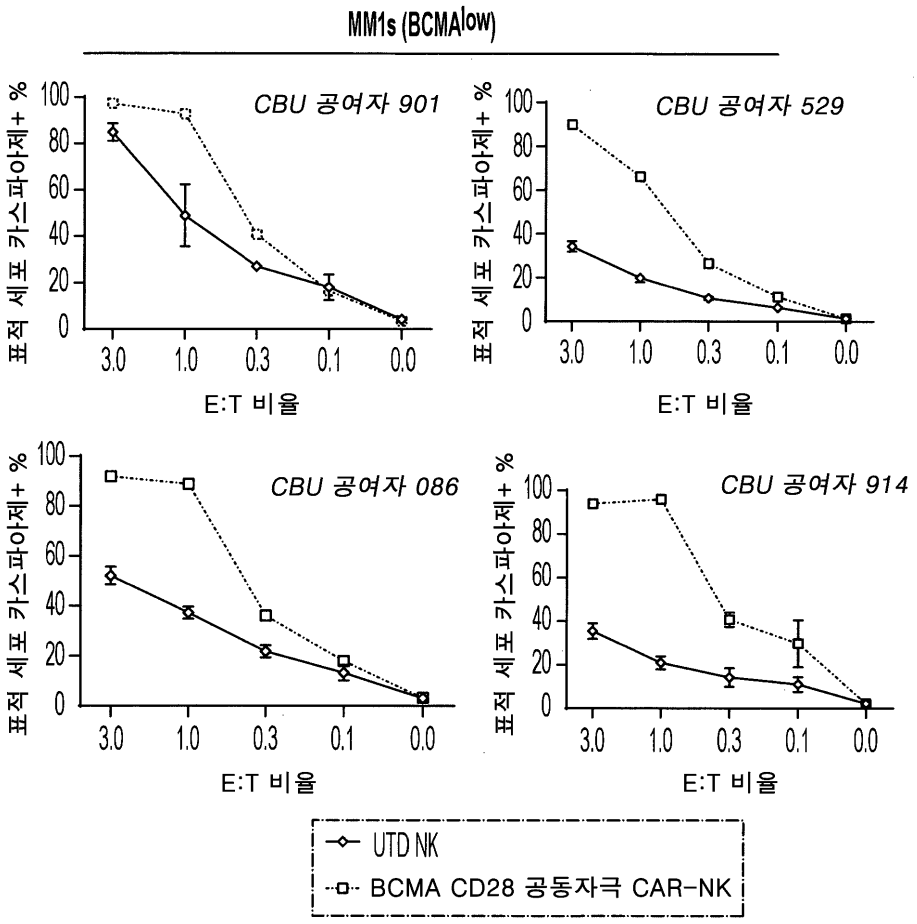
도면12b


1-일 지연된 투약
프레쉬 CAR-NK
MM1s 모델
종양 단독
BCMA28-2, 10M
처료 개시 후 일차
% 죽음
28.00
27.00
24.00
21.00
18.00
15.00
12.00
8.00
6.00
3.00
0.00
-3.00
-6.00
-9.00
-12.00
-15.00
-18.00
-5
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60

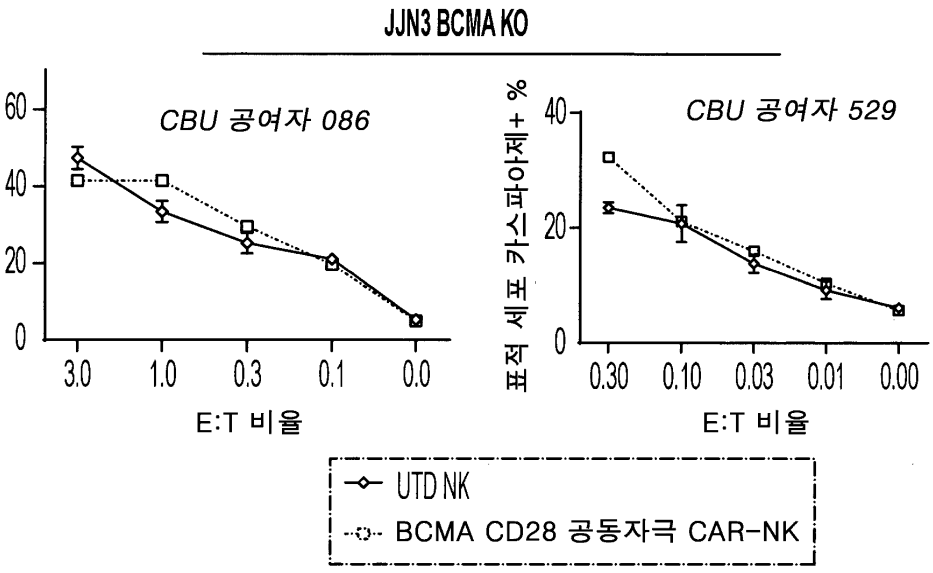
도면13


BCMA28-2
MM1s 종양 세포 단독
10M 세포 x1
10M 세포 x2
1일차
7일차
14일차
21일차
28일차
34일차
42일차
49일차

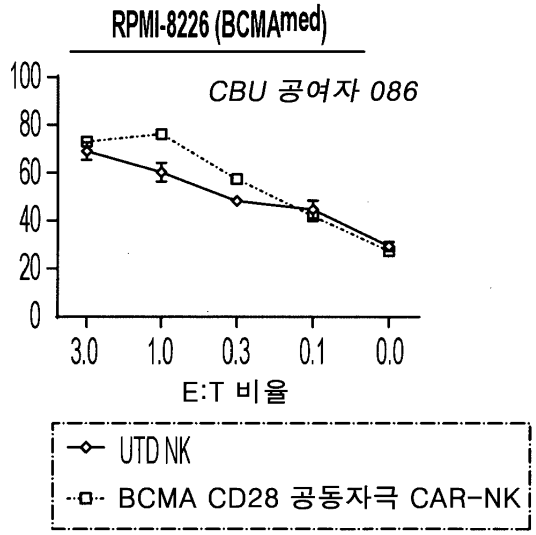
도면14a


MM1s (BCMAlow)
CBU 공여자 901
CBU 공여자 529
CBU 공여자 086
CBU 공여자 914
표적 세포 카스파아제+ %
E:T 비율
3.0
1.0
0.3
0.1
0.0
UTD NK
BCMA CD28 공동자극 CAR-NK

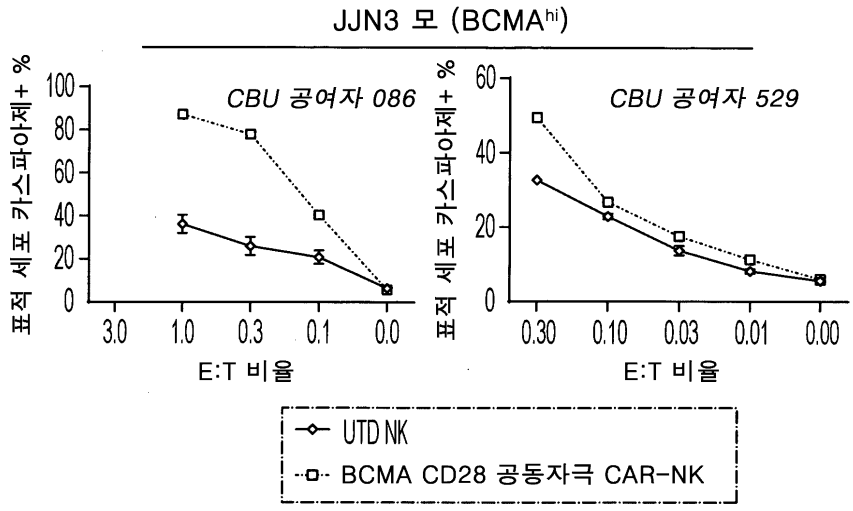
도면14b


JJN3 BCMA KO
CBU 공여자 086
CBU 공여자 529
표적 세포 카스파아제+ %
E:T 비율
3.0
1.0
0.3
0.1
0.0
0.30
0.10
0.03
0.01
0.00
UTD NK
BCMA CD28 공동자극 CAR-NK

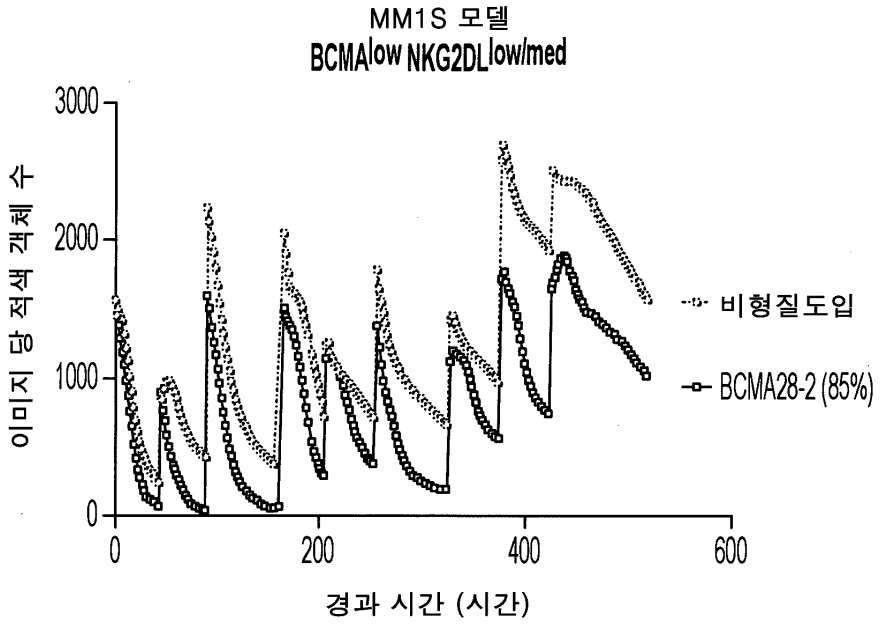
도면14c


RPMI-8226 (BCMAmed)
CBU 공여자 086
100
80
60
40
20
0
3.0
1.0
0.3
0.1
0.0
E:T 비율
UTD NK
BCMA CD28 공동자극 CAR-NK

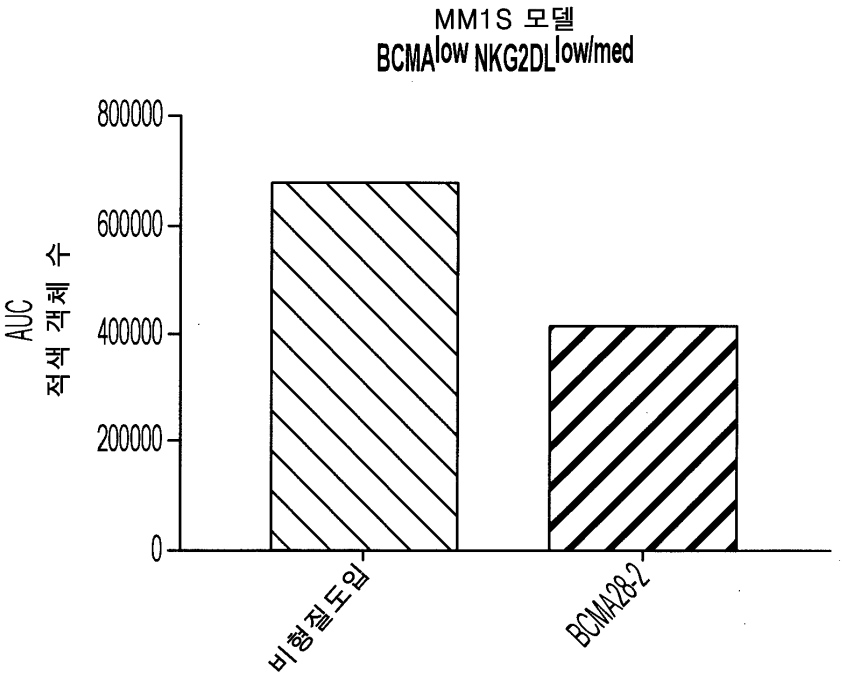
도면14d


JJN3 모 (BCMAhi)
표적 세포 카스파아제+ %
CBU 공여자 086
100
80
60
40
20
0
3.0
1.0
0.3
0.1
0.0
E:T 비율
CBU 공여자 529
60
40
20
0
0.30
0.10
0.03
0.01
0.00
E:T 비율
UTD NK
BCMA CD28 공동자극 CAR-NK

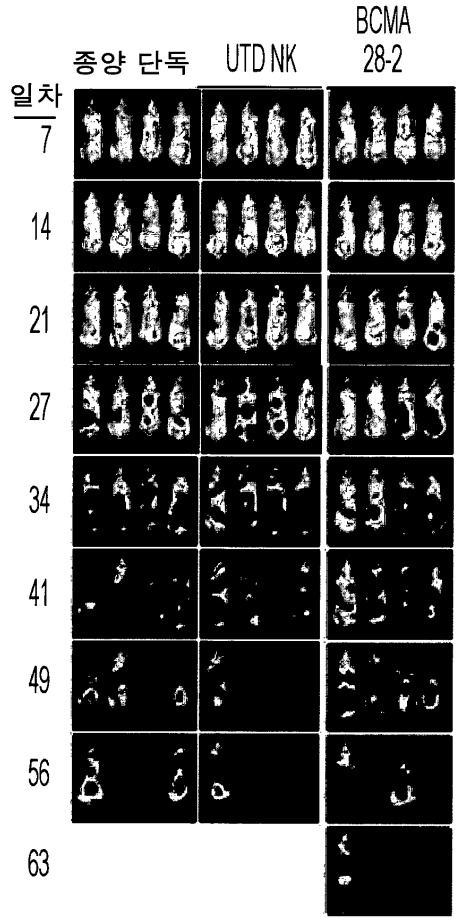
도면15a


MM1S 모델
BCMA low NKG2DL low/med
이미지 당 적색 객체 수
3000
2000
1000
0
0
200
400
600
경과 시간 (시간)
비형질도입
BCMA28-2 (85%)

도면15b


MM1S 모델
BCMA low NKG2DL low/med
AUC
적색 객체 수
800000
600000
400000
200000
0
비형질도입
BCMA28-2

도면16



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.