(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년03월11일
(11) 등록번호 10-2777395
(24) 등록일자 2025년02월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/725 (2006.01) *A61K 35/17* (2025.01)
A61K 38/00 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/7051 (2013.01)
A61K 35/17 (2025.01)
(21) 출원번호 10-2018-7014004
(22) 출원일자(국제) 2016년10월21일
심사청구일자 2021년10월18일
(85) 번역문제출일자 2018년05월17일
(65) 공개번호 10-2018-0063325
(43) 공개일자 2018년06월11일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/058305
(87) 국제공개번호 WO 2017/070608
국제공개일자 2017년04월27일
(30) 우선권주장
62/245,944 2015년10월23일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
EP00340793 A2*
KR1020140033029 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
유레카 쎄라퓨틱스, 인코포레이티드
미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 스위트 170 호 턴 스트리트 5858
(72) 발명자
루, 징웨이
미국 94587 캘리포니아주 유니온 시티 길로이 코트 32735
양, 지유안
미국 94706 캘리포니아주 알바니 아파트먼트 505 피어스 스트리트 555
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

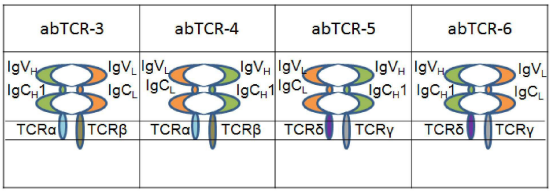
전체 청구항 수 : 총 17 항 심사관 : 정지혜

(54) 발명의 명칭 **항체/T-세포 수용체 키메라 구축물 및 그의 용도**

(57) 요 약

본 출원은 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM에 융합된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티를 포함하는 항체-TCR 키메라 구축물을 제공한다. 이러한 구축물의 제조 및 사용 방법이 또한 제공된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 38/00 (2013.01)
A61K 39/39558 (2013.01)
C07K 16/2809 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/522 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)
C07K 2319/74 (2013.01)

(72) 발명자
리우, 쳉
미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 #디334 코모도르 드라이브 4
리우, 홍
미국 94803 캘리포니아주 엘 소브란테 우드뷰 드라이브 5573
수, 위양
미국 94588 캘리포니아주 플리산톤 체스트넛 웨이 7652
얀, 수
미국 16803 펜실베니아주 스테이트 콜리지 파트릿지 레인 731
찬, 비비엔 웨이-판
미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 브룬스빅 레인 1538
호란, 루카스
미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 #156 포웰 스트리트 2340

(30) 우선권주장
62/304,918 2016년03월07일 미국(US)
62/345,649 2016년06월03일 미국(US)
62/369,694 2016년08월01일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

(a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 제1 펩티드 링커, 및 제1 T 세포 수용체 (TCR) 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCR 도메인 (TCRD)을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및

(b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 제2 펩티드 링커, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

를 포함하는, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체-TCR 키메라 분자 (abTCR)로서,

여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 항체 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 항체 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모듈을 형성하고,

제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCR 모듈 (TCRM)을 형성하고,

제1 및 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, 이뮤노글로불린 서브유닛으로부터의 불변 도메인 또는 그의 단편을 포함하고,

표적 항원은 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 표적 항원 복합체이고,

(i) 제1 TCR 서브유닛은 TCRα이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCRβ이거나;

(ii) 제1 TCR 서브유닛은 TCRβ이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCRα이거나;

(iii) 제1 TCR 서브유닛은 TCRγ이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCRδ이거나; 또는

(iv) 제1 TCR 서브유닛은 TCRδ이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCRγ인,

abTCR.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1 및 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, C_H1, C_H2, C_H3, C_H4, 또는 C_L 항체 도메인, 또는 그의 단편인 abTCR.

청구항 3

제2항에 있어서,

(a) (i) 제1 펩티드 링커가 C_H1 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 펩티드 링커가 C_L 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하거나; 또는

(ii) 제1 펩티드 링커가 C_L 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 펩티드 링커가 C_H1 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하거나;

(b) 제1 펩티드 링커가 C_H2 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 펩티드 링커가 C_H2 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하거나;

(c) 제1 펩티드 링커가 C_H3 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 펩티드 링커가 C_H3 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하거나; 또는

(d) 제1 펩티드 링커가 C_H4 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 펩티드 링커가 C_H4 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하는 것인

abTCR.

청구항 4

제3항에 있어서,

(a) (i) 제1 펩티드 링커가 C_H1 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 펩티드 링커가 C_L 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하거나; 또는

(ii) 제1 펩티드 링커가 C_L 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 펩티드 링커가 C_H1 항체 도메인 또는 그의 단편을 포함하고;

(b) C_H1 항체 도메인이 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 포함하고, C_L 항체 도메인이 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 것인

abTCR.

청구항 5

제1항에 있어서,

(a) 제1 TCRD가 제1 막횡단 도메인의 C-말단에 TCR 세포내 서열을 포함하는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하는 것이고, 제2 TCRD가 제2 막횡단 도메인의 C-말단에 TCR 세포내 서열을 포함하는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하는 것이거나; 또는

(b) 제1 폴리펩티드 쇄가 제1 막횡단 도메인의 C-말단에 공동-자극성 세포내 신호전달 서열을 포함하는 제1 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함하는 것이고, 제2 폴리펩티드 쇄가 제2 막횡단 도메인의 C-말단에 공동-자극성 세포내 신호전달 서열을 포함하는 제2 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함하는 것인

abTCR.

청구항 6

제1항에 있어서, 표적 항원 복합체 내의 펩티드가 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래되는 것인 abTCR.

청구항 7

제1항에 있어서, TCR-연관 신호전달 모듈이 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 abTCR.

청구항 8

제1항의 abTCR의 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 핵산(들).

청구항 9

제1항의 abTCR을 코딩하는 바이러스 벡터.

청구항 10

제1항의 abTCR을 표면 상에 제시하는 단리된 이펙터 세포.

청구항 11

제10항에 있어서,

(a) (i) 제1 TCR 서브유닛이 TCRα이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRβ이거나; 또는

(ii) 제1 TCR 서브유닛이 TCRβ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRα이고;

여기서 이펙터 세포가 γδ T 세포이거나; 또는

(b) (i) 제1 TCR 서브유닛이 TCRγ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRδ이거나; 또는

(ii) 제1 TCR 서브유닛이 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRɣ이고;

여기서 이펙터 세포가 αβ T 세포인

단리된 이펙터 세포.

청구항 12

제10항에 있어서,

(a) (i) 제1 TCR 서브유닛이 TCRα이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRβ이거나; 또는

(ii) 제1 TCR 서브유닛이 TCRβ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRα이고;

여기서 이펙터 세포가 내인성 TCRα 및 내인성 TCRβ의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이거나; 또는

(b) (i) 제1 TCR 서브유닛이 TCRɣ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRδ이거나; 또는

(ii) 제1 TCR 서브유닛이 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRɣ이고;

여기서 이펙터 세포가 내인성 TCRɣ 및 내인성 TCRδ의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 ɣδ T 세포인

단리된 이펙터 세포.

청구항 13

제10항에 있어서, 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 또는 억제인자 T 세포인 단리된 이펙터 세포.

청구항 14

제10항에 있어서, 표적 항원을 제시하는 표적 세포를 사멸시키기 위한 단리된 이펙터 세포이며, 여기서 표적 세포는 단리된 이펙터 세포와 접촉되고, abTCR은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 것인 단리된 이펙터 세포.

청구항 15

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 abTCR, 제8항의 핵산(들), 제9항의 바이러스 벡터, 또는 제10항 내지 제14항 중 어느 한 항의 단리된 이펙터 세포, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 표적 항원-연관 질환을 갖는 개체를 치료하기 위한 제약 조성물이며, 여기서 표적 항원-연관 질환은 암 또는 바이러스성 감염인 제약 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 암이 부신피질 암종, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 식도암, 교모세포종, 신경교종, 간세포성 암종, 두경부암, 신장암, 폐암, 흑색종, 중피종, 췌장암, 크롬친화세포종, 형질세포종, 신경모세포종, 난소암, 전립선암, 육종, 위암, 자궁암, 및 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 17

제15항에 있어서, 바이러스성 감염이 시토메갈로바이러스 (CMV), 엡스타인-바르 바이러스 (EBV), B형 간염 바이러스 (HBV), 카포시 육종 연관 헤르페스바이러스 (KSHV), 인간 유두종 바이러스 (HPV), 몰루스쿰 콘타기오숨 바이러스 (MCV), 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1 (HTLV-1), HIV (인간 면역결핍 바이러스), 및 C형 간염 바이러스 (HCV)로 이루어진 군으로부터 선택된 바이러스에 의해 야기되는 것인 제약 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호-참조**

[0002] 본 출원은 2015년 10월 23일에 출원된 미국 가출원 번호 62/245,944, 2016년 3월 7일에 출원된 미국 가출원 번호 62/304,918, 2016년 6월 3일에 출원된 미국 가출원 번호 62/345,649, 및 2016년 8월 1일에 출원된 미국 가출원 번호 62/369,694를 우선권 주장하고, 이들 모두는 그 전문이 참조로 포함된다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 본 발명은 항체/T 세포 수용체 키메라 구축물, 및 질환 치료 및 진단을 포함한 그의 용도에 관한 것이다.

[0005] **ASCII 텍스트 파일 상의 서열 목록의 제출**

[0006] ASCII 텍스트 파일 상의 하기 제출물의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다: 컴퓨터 판독가능 형태 (CRF)의 서열 목록 (파일명: 750042000340SEQLIST.txt, 기록일: 2016년 10월 20일, 크기: 104 KB).

배 경 기 술

[0007] T-세포 매개 면역은 바이러스, 박테리아, 기생충 감염 또는 악성 세포를 제거하기 위해 항원 (Ag)-특이적 T 림프구가 발생되는 적응성 프로세스이다. 이는 또한 자가-항원의 비정상적인 인식을 수반하여, 자가면역 염증성 질환에 이를 수 있다. T 림프구의 Ag 특이성은 Ag-제시 세포 (APC) 상의 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 분자가 제시하는 독특한 항원성 펩티드를 T 세포 수용체 (TCR)를 통해 인식하는 것을 기초로 한다 (Broere, *et al.*, *Principles of Immunopharmacology*, 2011). 각각의 T 림프구는 흉선에서의 성숙 시의 발생적 선택의 결과로서 독특한 TCR을 세포 표면 상에서 발현한다. TCR은 αβ 이종이량체 또는 γδ 이종이량체로서 2가지 형태로 발생한다. T 세포는 αβ 형태 또는 γδ 형태의 TCR을 세포 표면 상에서 발현한다. 4개의 쇄 α/β/γ/δ 모두가 고도로 다형태성인 "이뮤노글로불린 가변 영역"-유사 N-말단 도메인 및 "이뮤노글로불린 불변 영역"-유사 제2 도메인으로 이루어진 특징적인 세포외 구조를 갖는다. 각각의 이러한 도메인에는 특징적인 도메인내 디술피드 가교가 있다. 불변 영역이 세포막에 가깝고, 연결 펩티드, 막횡단 영역 및 짧은 세포질 꼬리가 이어진다. 이종이량체성 TCR의 2개의 쇄 사이의 공유결합 연결은 세포외 불변 도메인과 막횡단 영역을 가교하는 짧은 연결 펩티드 서열 내에 위치하는 시스테인 잔기에 의해 형성되며, 이는 상응하는 위치의 쌍을 이룬 TCR 쇄 시스테인 잔기와 디술피드 결합을 형성한다 (The T cell Receptor Factsbook, 2001).

[0008] αβ 및 γδ TCR은 비-다형태성 막-결합 CD3 단백질과 회합되어, TCR 이종이량체 및 3개의 이량체성 신호전달 모듈인 CD3δ/ε, CD3γ/ε 및 CD3ζ/ζ 또는 ζ/η로 이루어진 기능성 팔량체 TCR-CD3 복합체를 형성한다. 각각의 서브유닛의 막횡단 도메인 내의 이온화가능한 잔기가 복합체를 함께 유지시키는 상호작용의 극성 네트워크를 형성한다. T 세포 활성화를 위해, TCR N-말단 가변 영역이 표적 세포의 표면 상에 제시된 펩티드/MHC 복합체를 인식하는 반면, CD3 단백질은 신호 전달에 참여한다 (Call *et al.*, *Cell*. 111(7):967-79, 2002; The T cell Receptor Factsbook, 2001).

[0009] 통상적인 TCR로도 칭해지는 αβ TCR은 대부분의 림프구 상에 발현되고, 글리코실화된 다형태성 α 및 β 쇄로 이루어진다. 상이한 αβ TCR들이 치수 및 형상이 비교적 일정한 MHC II (대부분 APC 세포 표면 상에서 발현됨) 및 MHC I (모든 유핵 세포 상에 발현됨) 분자의 표면에 매립된 상이한 펩티드들을 구별할 수 있다. γδ TCR은, αβ TCR과 구조적으로 유사하지만, 탄수화물-, 뉴클레오티드-, 또는 인-보유 항원을 MHC 제시와 독립적인 방식으로 인식한다 (The T cell Receptor Factsbook, 2001; Girardi *et al.*, *J. Invest. Dermatol.* 126(1):25-31, 2006; Hayes *et al.*, *Immunity*. 16(6):827-38, 2002).

[0010] 세포 표면 단백질은 세포 단백질의 작은 분획만을 구성하고, 대부분의 이러한 단백질은 종양-특이적이지 않다.

대조적으로, 돌연변이되거나 종양원성인 종양-연관 단백질은 전형적으로 세포 내에 위치하거나, 핵 단백질, 세포질 단백질 또는 분비 단백질이다. 대부분의 세포내 단백질은 정상적인 프로세스의 단백질 이화작용 및 MHC 분자에 의한 제시의 일부로서 세포 표면 상에 노출된다. 세포내 단백질은 일반적으로 일반적으로 프로테아솜 또는 엔도/리소솜에 의해 분해되고, 생성된 특이적인 펩티드 단편이 MHC 클래스 I/II 분자에 결합한다. 이러한 펩티드/MHC 복합체가 세포 표면에 디스플레이되고, 여기에서 펩티드/MHC TCR 상호작용을 통한 T 세포 인식에 대한 표적을 제공한다 (Scheinberg *et al.*, *Oncotarget*. 4(5):647-8, 2013; Cheever *et al.*, *Clin. Cancer Res*. 15(17):5323-37, 2009).

[0011] 지난 20년 동안, 면역학 및 종양 생물학의 근본적인 발전은, 다수의 종양 항원의 확인과 조합되어, 세포-기반 면역요법 분야에서의 상당한 진전에 이르렀다. T 세포 요법은, 자가 및 생체외 확장 T 세포를 환자에게 전달하는 것에 의해 암을 치료하는 것으로 목적으로 하면서, 세포-기반 면역요법 분야에서 큰 부분을 차지하고, 일부 주목할만한 항종양 반응을 초래하였다 (Blattman *et al.*, *Science*. 305(5681):200-5, 2004). 예를 들어, 생체외에서 확장된 천연 발생 종양 침윤 림프구 (TIL)의 투여가 간, 폐, 연조직 및 뇌를 수반하는 다중 부위에서의 부피가 큰 침습성 종양을 포함하여, 흑색종 환자에서 50-70% 범위의 객관적 반응률을 매개하였다 (Rosenberg *et al.*, *Nat. Rev. Cancer*. 8(4):299-308, 2008; Dudley ME *et al.*, *J. Clin. Oncol*. 23(10):2346-57, 2005).

[0012] TIL 요법의 광범위한 적용에 대한 주요 제한은 항종양 잠재력이 있는 인간 T 세포를 생성시키는 것이 어렵다는 것이다. 대안적인 접근법으로서, 외인성 고-친화력 TCR을 T 세포 조작을 통해 환자의 정상 자가 T 세포 내로 도입할 수 있다. 림프-고갈 환자 내로의 이러한 세포의 입양 전달이 암 예컨대 흑색종, 결장직장 암종, 및 활막 육종에서 암 퇴행을 매개하는 것으로 나타내어진 바 있다 (Kunert R *et al.*, *Front. Immunol*. 4:363, 2013). 활막 육종에 대한 항 NY-ESO-1 TCR을 이용한 최근의 I상 임상 시험에서, 66%의 전체 반응률이 보고되었고, T 세포 요법을 받고 있는 환자 중 1명에서 완전 반응이 달성되었다 (Robbins PF *et al.*, *Clin. Cancer Res*. 21(5):1019-27, 2015).

[0013] TCR-조작 T 세포 요법의 장점 중 하나는 MHC 제시를 통해 세포 표면으로 프로세싱 및 전달된 잠재적인 세포내 종양-특이적 단백질의 전체 어레이를 표적화할 수 있다는 것이다. 또한, TCR은 고도로 민감하고, 소수의 항원성 펩티드/MHC 분자에 의해서만 활성화될 수 있으며, 이는 차례로 시토카인 분비, T 세포 증식 및 규정된 표적 세포의 세포용해를 포함하는 세포용해성 T 세포 반응을 촉발할 수 있다. 따라서, 항체 또는 소형 분자 요법과 비교하여, TCR-조작 T 세포는 표적 세포내 항원의 카피수가 매우 적은 표적 세포를 사멸시키는 그의 능력으로 인해 특히 유용하다 (Kunert R *et al.*, *Front. Immunol*. 4:363, 2013).

[0014] 그러나, 주로 하이브리도마 또는 디스플레이 기술을 통해 발견되는 치료 항체와 달리, 표적-특이적 TCR의 확인은 환자 T 세포로부터의 표적 펩티드/MHC 특이적 TCR 클론의 확립 및 최적의 표적 항원-결합 친화력이 있는 올바른 α-β 쇄 조합에 대한 스크리닝을 필요로 한다. 매우 빈번하게, TCR의 표적 결합 친화력을 추가로 강화하기 위해 환자 T 세포로부터의 TCR의 클로닝 후에 파지/효모 디스플레이가 사용된다. 전체 프로세스는 다수의 분야의 전문 기술을 필요로 하고, 시간 소모적이다 (Kobayashi E *et al.*, *Oncoimmunology*. 3(1):e27258, 2014). TCR 발견 프로세스의 어려움이 TCR-조작 T 세포 요법의 광범위한 적용을 크게 방해하였다. 이는 치료-관련 독성, 특히 종양 세포 상에서 과발현되지만 건강한 세포 상에서도 발현되는 항원에 대한 TCR의 독성, 또는 표적을 벗어난 펩티드/MHC 복합체를 인식하는 TCR의 독성에 의해서도 방해를 받은 바 있다 (Rosenberg SA *et al.*, *Science*. 348(6230):62-8, 2015).

[0015] T 세포를 표적화된 암 면역요법에 결속시키기 위해 상이한 접근법이 최근 개발된 바 있다. 이러한 새로운 접근법은 키메라 항원 수용체 T 세포 요법 (CAR-T: Chimeric Antigen Receptor T cell Therapy)으로 칭해진다. 이는 모노클로날 항체의 정교한 표적화 특이성과 세포독성 T 세포가 제공하는 강력한 세포독성 및 장기 지속성을 병합한다. CAR은 세포 표면 항원을 인식하는 세포외 도메인, 막횡단 영역, 및 세포내 신호전달 도메인으로 구성된다. 세포외 도메인은 단일쇄 가변 단편 (scFv)으로 융합된 모노클로날 항체의 중쇄 및 경쇄로부터의 항원-결합 가변 영역으로 이루어진다. 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM), 예컨대 CD3ζ 또는 FcRγ로부터의 것, 및 하나 이상의 공동자극성 신호전달 도메인, 예컨대 CD28, 4-1BB 또는 OX40로부터의 것을 함유한다 (Barrett DM *et al.*, *Annu. Rev. Med*. 65:333-47, 2014; Davila ML *et al.*, *Oncoimmunology*. 1(9):1577-1583, 2012). T 세포 표면 상에 그래프트된 CAR이 표적 항원에 결합하는 것은 TCR-펩티드/MHC 복합체 상호작용과 독립적으로 T 세포 이펙터 기능을 촉발할 수 있다. 따라서, CAR이 장착된 T 세포가 T 세포 상의 TCR의 MHC 유형과 부합되지 않지만 표적 세포-표면 항원을 발현하는 것을 포함하는 광범위한 세포를 공격하도록 재지시될 수 있다. 이러한 접근법은 MHC-제한 TCR 인식의 제약을 극복하고, 항원 제시 또는 MHC 분자 발현에서의 손상을 통한 종양 탈출을 방지한다. 임상 시험에서, 신경모세포종 (Louis CU *et*

al., *Blood.* 118(23):6050-6056, 2011), B-ALL (Maude, SL, *et al.*, *New England Journal of Medicine* 371:16:1507-1517, 2014), CLL (Brentjens, RJ, *et al. Blood* 118:18:4817-4828, 2011), 및 B 세포 림프종 (Kochenderfer, JN, *et al. Blood* 116:20:4099-4102, 2010)에서의 CAR-T 요법의 임상적으로 유의한 항종양 활성이 나타났다. 한 연구에서, CD19-CAR T 요법으로 치료된 30명의 B-ALL 환자에서 90% 완전 완화율이 보고되었다 (Maude, SL, *et al.*, 상기 문헌).

[0016] 전부는 아니지만 대부분의 지금까지 연구된 CAR은 세포 표면 발현이 높은 종양 항원에 대해 지시된 바 있다. 모든 공지된 종양-특이적 항원의 95%를 나타내는, 카피수가 낮은 세포-표면 종양 항원 및 세포내 종양 항원을 표적화하기 위해, 더욱 강력하고 효과적인 조작된 세포 요법을 개발하는 것이 요구된다 (Cheever, *et al.*, *Clin. Cancer Res.* 15(17):5323-37, 2009).

[0017] T 세포 수용체 이펙터 기능과 함께 항체 특이성이 있는 키메라 수용체 분자를 조작하기 위한 여러 시도들이 이루어진 바 있다. 예를 들어, 문헌 [Kuwana, Y, *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 149(3):960-968, 1987]; [Gross, G, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86:10024-10028, 1989]; [Gross, G & Eshhar, Z, *FASEB J.* 6(15):3370-3378, 1992]; 미국 특허 번호 7,741,465를 참조한다. 현재까지, 이러한 키메라 수용체 중 어느 것도 임상 용도용으로 채택된 바 없으며, 인간 T 세포에서의 기능성 및 발현이 개선된 항체-TCR 키메라 수용체에 대한 신규 디자인이 요구된다.

[0018] 본원에서 언급된 모든 공개물, 특허, 특허 출원 및 특허 출원 공보의 개시내용은 이에 의해 전문이 본원에 참조로 포함된다.

발명의 내용

[0019] 본 출원은, 한 측면에서, T 세포 수용체 모듈에 융합된 항체 모이어티 (예컨대 Fab-유사 항원-결합 모듈)를 포함하는 구축물 (예컨대 단리된 구축물)을 제공한다 (상기 구축물은 본원에서 "항체-TCR 키메라 분자", 또는 "abTCR"로도 지칭됨). 일부 실시양태에서, abTCR은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈, 및 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈 (TCRM)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 펩티드 및 MHC 단백질 (예컨대 MHC 클래스 I 단백질 또는 MHC 클래스 II 단백질)을 포함하는 복합체이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포-표면 항원이다.

[0020] 일부 실시양태에서, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR (예컨대 단리된 abTCR)이 제공되며, 여기서 abTCR은 a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 T 세포 수용체 도메인 (TCRD)을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈 (TCRM)을 형성한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 제1 폴리펩티드 쇄 내의 C_H1 도메인 내의 잔기와 제2 폴리펩티드 쇄 내의 C_L 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, 아미노산 약 5개 내지 약 50개의 길이이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 펩티드 및 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 단백질을 포함하는 복합체이다.

[0021] 일부 실시양태에서, a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으

로 결합하는 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈 (TCRM)을 형성하고, 여기서 표적 항원은 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체인, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커를 추가로 포함하고, 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, 이뮤노글로불린 또는 T 세포 수용체 서브유닛으로부터의 불변 도메인 또는 그의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, CH1, CH2, CH3, CH4 또는 CL 항체 도메인, 또는 그의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, Cα, Cβ, Cɣ, 또는 Cδ TCR 도메인, 또는 그의 단편을 포함한다.

[0022] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, 제1 TCRD는 제1 막횡단 도메인의 N-말단에 TCR 서브유닛의 제1 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 제2 TCRD는 제2 막횡단 도메인의 N-말단에 TCR 서브유닛의 제2 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 제1 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 막횡단 도메인의 C-말단에 TCR 세포내 서열을 포함하는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 TCRD는 제2 막횡단 도메인의 C-말단에 TCR 세포내 서열을 포함하는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 약 0.1 pM 내지 약 500 nM의 평형 해리 상수 (K_d)로 표적 항원에 결합한다. 일부 실시양태에서, TCR-연관 신호전달 모듈은 CD3δε, CD3ɣε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0023] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 막횡단 도메인의 C-말단에 공동-자극성 세포내 신호전달 서열을 포함하는 제1 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 막횡단 도메인의 C-말단에 공동-자극성 세포내 신호전달 서열을 포함하는 제2 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 항원-결합 도메인의 N-말단에 제1 신호전달 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 항원-결합 도메인의 N-말단에 제2 신호전달 펩티드를 추가로 포함한다.

[0024] 일부 실시양태에서, 표적 항원이 펩티드 및 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 단백질을 포함하는 복합체인 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다.

[0025] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, a) 제1 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이고 제2 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이거나; b) 제1 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이고 제2 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이거나; c) 제1 TCR 서브유닛은 TCR ɣ 쇄이고 제2 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이거나; 또는 d) 제1 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이고 제2 TCR 서브유닛은 TCR ɣ 쇄이다.

[0026] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, abTCR의 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 핵산이 제공된다.

[0027] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, abTCR, 및 CD3δε, CD3ɣε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 포함하는 복합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 복합체는 abTCR 및 CD3δε, CD3ɣε, 및 ζζ를 포함하는 팔량체이다.

[0028] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR을 코딩하는 핵산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 제1 TCR 서브유닛 및/또는 제2 TCR 서브유닛을 발현하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, a) 제1 TCR 서브유닛은 TCRɣ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRδ이거나; 또는 b) 제1 TCR 서브유닛은 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRɣ이고; 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, a) 제1 TCR 서브유닛은 TCRɣ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRδ이거나; 또는 b) 제1 TCR 서브유닛은 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRɣ이고; 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 제1 내인성 TCR 서브유닛 및/또는 제2 내인성 TCR 서브유닛의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCRα이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRβ이거나; 또는 b) 제1 TCR 서브유닛은 TCRβ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRα이고; 이펙터 세포는 TCRα 및/또는 TCRβ의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, a) 제1 TCR 서브유닛은 TCRɣ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRδ이거나; 또는 b) 제1 TCR 서브유닛은 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRɣ이고; 이펙터 세포는 TCRɣ 및/또는

TCRδ의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다.

[0029] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포이며, 여기서 이펙터 세포는 T 세포인 이펙터 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, T 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0030] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포이며, 여기서 이펙터 세포는 a) 제1 프로모터의 제어 하의 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열을 포함하는 제1 벡터 및 b) 제2 프로모터의 제어 하의 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하는 제2 벡터를 포함하는 것인 이펙터 세포가 제공된다.

[0031] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포이며, 여기서 이펙터 세포는 a) 제1 프로모터의 제어 하의 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열; 및 b) 제2 프로모터의 제어 하의 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하는 벡터를 포함하는 것인 이펙터 세포가 제공된다.

[0032] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포이며, 여기서 이펙터 세포는 a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하는 벡터를 포함하며, 여기서 제1 및 제2 핵산 서열은 단일 프로모터의 제어 하에 있는 것인 이펙터 세포가 제공된다.

[0033] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따르면, abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포이며, 여기서 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄의 발현과 2배 초과로 차이나는 것인 이펙터 세포가 제공된다.

[0034] 일부 실시양태에서, 표적 세포를 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따른 abTCR을 발현하는 이펙터 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 abTCR은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 것인, 표적 항원을 제시하는 표적 세포를 사멸시키는 방법이 제공된다.

[0035] 일부 실시양태에서, 표적 세포를 a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 포함하는 이펙터 αβ T 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈 (TCRM)을 형성하고, 여기서 제1 TCR 서브유닛은 TCRγ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRδ이거나, 또는 제1 TCR 서브유닛은 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRγ인, 표적 항원을 제시하는 표적 세포를 사멸시키는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커를 추가로 포함하고, 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, 이뮤노글로불린 또는 T 세포 수용체 서브유닛으로부터의 불변 도메인 또는 그의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, CH1, CH2, CH3, CH4 또는 CL 항체 도메인, 또는 그의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, Cα, Cβ, Cγ, 또는 Cδ TCR 도메인, 또는 그의 단편을 포함한다.

[0036] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 표적 세포를 사멸시키는 방법 중 임의의 것에 따르면, 접촉은 생체내에서 이루어진다. 일부 실시양태에서, 접촉은 시험관내에서 이루어진다.

[0037] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따른 abTCR 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 상기 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따른 abTCR을 발현하는 이펙터 세포 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 제공된다.

[0038] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따른 abTCR을 발현하는 이펙터 세포를 포함하는 제약 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 항원-연관 질환의 치료를

필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다.

[0039] 일부 실시양태에서, a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 포함하는 이펙터 αβ T 세포를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈 (TCRM)을 형성하고, 여기서 제1 TCR 서브유닛은 TCRγ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRδ이거나, 또는 제1 TCR 서브유닛은 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRγ인, 표적 항원-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커를 추가로 포함하고, 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, 이뮤노글로불린 또는 T 세포 수용체 서브유닛으로부터의 불변 도메인 또는 그의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, CH1, CH2, CH3, CH4 또는 CL 항체 도메인, 또는 그의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는, 개별적으로, Cα, Cβ, Cγ, 또는 Cδ TCR 도메인, 또는 그의 단편을 포함한다.

[0040] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 표적 항원-연관 질환을 치료하는 방법 중 임의의 것에 따르면, 표적 항원-연관 질환은 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 부신피질 암종, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 식도암, 교모세포종, 신경교종, 간세포성 암종, 두경부암, 신장암, 림프종, 백혈병, 폐암, 흑색종, 중피종, 다발성 골수종, 췌장암, 크롬친화세포종, 형질세포종, 신경모세포종, 난소암, 전립선암, 육종, 위암, 자궁암 및 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원-연관 질환은 바이러스성 감염이다. 일부 실시양태에서, 바이러스성 감염은 시토메갈로바이러스 (CMV), 엡스타인-바르 바이러스 (EBV), B형 간염 바이러스 (HBV), 카포시 육종 연관 헤르페스바이러스 (KSHV), 인간 유두종 바이러스 (HPV), 몰루스쿰 콘타기오숨 바이러스 (MCV), 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1 (HTLV-1), HIV (인간 면역결핍 바이러스), 및 C형 간염 바이러스 (HCV)로 이루어진 군으로부터 선택된 바이러스에 의해 야기된다.

[0041] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산을 포함하는 제약 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 항원-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다.

[0042] 일부 실시양태에서, a) 불균질 세포 집단을 표적 항원 또는 그에 함유된 하나 이상의 에피토프를 포함하는 리간드와 접촉시켜, 리간드에 결합된 이펙터 세포의 복합체를 형성시키는 단계; 및 b) 불균질 세포 집단으로부터 복합체를 분리함으로써, 이펙터 세포에 대해 강화된 세포 집단을 생성시키는 단계를 포함하는, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따른 abTCR을 발현하는 이펙터 세포에 대해 불균질 세포 집단을 강화하는 방법이 제공된다.

[0043] 일부 실시양태에서, 상기 기술된 abTCR (예컨대 단리된 abTCR) 중 임의의 것에 따른 복수의 abTCR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다.

[0044] 일부 실시양태에서, a) 복수의 세포의 표면 상에서 abTCR이 발현되도록, 복수의 세포 내로 핵산 라이브러리를 도입하는 단계; b) 복수의 세포를 표적 항원 또는 그에 함유된 하나 이상의 에피토프를 포함하는 리간드와 함께 인큐베이션하는 단계; c) 리간드에 결합된 세포를 수집하는 단계; 및 d) 단계 c)에서 수집된 세포로부터 abTCR을 코딩하는 서열을 단리함으로써, 표적 항원에 대해 특이적인 abTCR을 확인하는 단계를 포함하는, 표적 항원에 대해 특이적인 abTCR을 코딩하는 서열에 대해 상기 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 핵산 라이브러리를 스크리닝하는 방법이 제공된다.

[0045] 본원에 기술된 구축물 중 임의의 것을 제조하는 방법, 제조 물품, 및 본원에 기술된 방법에 적절한 키트가 또한 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1a는 다양한 abTCR 구축물 디자인 (abTCR-3, abTCR-4, abTCR-5, 및 abTCR-6)의 개략도를 나타낸다.

도 1b는 abTCR 구축물 디자인의 구상되는 변이를 나타낸다.

도 2는 TCR-CD3 복합체의 어셈블리에 대한 통상적인 모델을 나타낸다.

도 3은 항-FLAG (TCRα- 및 TCRɣ-유래 키메라 서브유닛) 또는 항-HA 항체 (TCRβ- 및 TCRδ-유래 키메라 서브유닛)로 염색된, 항-AFP158/HLA*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-3, -4, -5, -6, 또는 -6MD 구축물이 개별적으로 형질도입된 J.RT3-T3.5 또는 Jurkat 세포로부터의 용해물의 웨스턴 블롯 분석을 나타낸다.

도 4a는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-3, -4, -5, -6, 또는 -6MD 구축물이 개별적으로 형질도입된 J.RT3-T3.5 세포에서의 표면 CD3ε 발현의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; 세포를 항-CD3ε 항체로 염색하였다.

도 4b는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-3, -4, -5, -6, 또는 -6MD 구축물이 개별적으로 형질도입된 J.RT3-T3.5 세포에서의 표면 AFP158/HLA-A*02:01 사량체 결합의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; 세포를 피코에리트린 (PE)-표지 AFP158/HLA-A*02:01 사량체로 염색하였다.

도 4c는 항체가 인식하는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-3, -4, -5, -6, 또는 -6MD 구축물이 개별적으로 형질도입된 J.RT3-T3.5 세포에서의 표면 항-이디오타입 항체 결합의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; 세포를 abTCR 구축물의 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티에 대한 항-이디오타입 항체로 염색하였다.

도 5a는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-3, -4, -5, -6, 또는 -6MD 구축물이 개별적으로 형질도입된 Jurkat 세포에서의 표면 항-TCRα/β 항체 결합의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; 세포를 항-TCRα/β 항체로 염색하였다.

도 5b는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-3, -4, -5, -6, 또는 -6MD 구축물이 개별적으로 형질도입된 Jurkat 세포에서의 표면 AFP158/HLA-A*02:01 사량체 결합의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; 세포를 PE-표지 AFP158/HLA-A*02:01 사량체로 염색하였다.

도 5c는 항체가 인식하는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-3, -4, -5, -6, 또는 -6MD 구축물이 개별적으로 형질도입된 Jurkat 세포에서의 표면 항-이디오타입 항체 결합의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; 세포를 abTCR 구축물의 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티에 대한 항-이디오타입 항체로 염색하였다.

도 6은 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-6 또는 abTCR-6MD 구축물이 개별적으로 형질도입된 J.RT3-T3.5 세포에서의 CD3ε과 abTCR 키메라의 공동-발현의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; 세포를 항-CD3ε 항체 및 AFP158/HLA-A*02:01 사량체로 공동-염색하였다.

도 7a는 abTCR-형질도입 말초 혈액 림프구의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; 세포에 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD 구축물을 형질도입하고, 항-CD4 항체, 항-CD8 항체 및 AFP158/HLA-A*02:01 사량체로 공동-염색하였다. 점선 상자는 도 7b의 CD4/CD8 플롯에서 제시된 세포에 대한 사량체$^{+}$ 집단 게이트를 가리킨다.

도 7b는 모의-형질도입되거나 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD 구축물이 형질도입되고 항-CD4 및 항-CD8 항체로 공동-염색된 말초 혈액 림프구 상에서의 CD4 및 CD8 발현의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; CD4 및 CD8 발현이 게이팅되지 않은 세포 (상위 2개의 패널) 또는 사량체$^{+}$ 게이팅 세포 (하위 패널)에 대해 제시된다.

도 8은 외인성 abTCR 쇄와 CD3 복합체의 회합의 웨스턴 블롯 분석을 나타낸다; 모의-형질도입되거나 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 1차 T 세포로부터 디지토닌 용해물을 제조하였다; 용해물 또는 항-FLAG 면역침전물을 항-FLAG, 항-CD3δ, 항-CD3ε, 항-CD3ɣ 또는 항-CD3ζ 항체로 블롯팅하였다.

도 9a는 둘 다 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 후의 1차 T 세포에서의 형질도입 효율을 나타낸다; 세포를 PE-표지 AFP158/HLA-A*02:01 사량체로 염색하였다.

도 9b는 둘 다 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD 구축물이 형질도입된 T 세포에 의해 매개된 암 세포주 HepG2, SK-HEP-1 및 SK-HEP-1-AFP-MG의 사멸을 나타낸다.

도 10은 표적 세포와 공동-배양한 후의 abTCR-형질도입 T 세포의 탈과립화의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; T 세포에 둘 다 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD를 형질도입하였다. 표적 세포인 HepG2, SK-HEP-1 및 SK-HEP-1-AFP-MG와 공동-배양한 후의 형질도입 세포의 AFP158/HLA-A*02:01 사량체, 항-CD8 항체 또는 항-CD107a 항체로의 염색이 제시된다.

도 11a는 HepG2 세포와 공동-배양한 후의, 모의-형질도입 T 세포 또는 둘 다 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포에 의한 시토카인 패널의 분비 수준을 나타낸다.

도 11b는 SK-HEP-1 또는 SK-HEP-1-AFP-MG 세포와 공동-배양된, 모의-형질도입 T 세포 또는 둘 다 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포에 의한 시토카인 패널의 분비 수준을 나타낸다.

도 12a-12h는 표적 암 세포의 존재 또는 부재 하의 시토카인 생산에 대한 형질도입 T 세포의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다; T 세포에 둘 다 동일한 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD를 형질도입하고, SK-HEP-1, SK-HEP-1-AFP-MG, 또는 HepG2 세포와 공동-배양하였다; 이어서 세포를 PE-표지 AFP158/HLA-A*02:01 사량체, 항-CD4 항체, 및 항-TNF-α 항체 (12a 및 12b), 항-IFNɣ 항체 (12c 및 12d), 항-IL-2 항체 (12e 및 12f), 또는 항-IL-6 항체 (12g 및 12h) 중 하나로 공동-염색하였다. 제시된 집단은 AFP158/HLA-A*02:01 사량체$^{+}$ 세포에서 게이팅되었다.

도 13은 항-AFP158 abTCR이 형질도입되고 AFP 발현에 대해 양성 또는 음성인 암 세포주와 함께 인큐베이션된 CD4+ T 세포에서의 시토카인 발현의 표적-특이적 활성화를 나타낸다.

도 14는 항원-양성 또는 -음성 표적 세포에 대한 노출 시의, 둘 다 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR- 또는 abTCR-형질도입 T 세포 상에서의 T 세포 고갈 마커 PD-1, LAG-3 및 TIM-3의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

도 15는 항원-양성 또는 -음성 표적 세포에 대한 노출 시의, 둘 다 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR- 또는 abTCR-형질도입 T 세포 상에서의 T 세포 분화 마커 CD28, CCR7 및 그랜자임 B의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

도 16a-16c는 둘 다 동일한 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD 또는 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7이 형질도입된 T 세포의 특성화를 나타낸다. 도 16a는 형질도입된 T 세포의 세포 성장을 나타낸다. 도 16b는 FLAG-태그 구축물을 검출하는 항-FLAG 항체를 사용한 T 세포에서의 abTCR-6MD 및 abTCR-7의 발현에 대한 웨스턴 블롯 분석을 나타낸다. CD3ζ에 대한 염색이 로딩 대조군으로서 포함되었다. 도 16c는 abTCR-6MD 또는 abTCR-7이 형질도입된 T 세포에 의해 매개되는 SK-HEP-1 및 SK-HEP-1-AFP-MG 세포의 사멸을 나타낸다.

도 17은 모의-형질도입 T 세포 또는 둘 다 동일한 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포에 의해 매개되는, 암 세포주 JeKo-1, IM9, THP-1 및 Jurkat의 사멸을 나타낸다.

도 18a 및 18b는 JeKo-1, IM9, THP-1 또는 Jurkat 세포주와 공동-배양된, 모의-형질도입 T 세포 또는 둘 다 동일한 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포에 의한 시토카인 패널의 분비 수준을 나타낸다.

도 19는 항-CD19 abTCR이 형질도입되고, CD19 발현에 대해 양성 또는 음성인 암 세포주와 함께 인큐베이션된 CD4+ T 세포에서의 시토카인 발현의 표적-특이적 활성화를 나타낸다.

도 20은 항원-양성 또는 -음성 표적 세포에 대한 노출 시의, 둘 다 동일한 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR- 또는 abTCR-형질도입 T 세포에서의 T 세포 분화 마커 CD28, CCR7 및 그랜자임 B의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

도 21은 노출 시작 후 제2일부터 제3일까지의 염료 희석에 의해 평가된 바와 같은, 항원-양성 표적 세포에 대한 노출 동안의 둘 다의 키메라 수용체에 동일한 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR- 또는 abTCR-형질도입 CD4^{+} 또는 CD8^{+} T 세포의 증식을 나타낸다.

도 22는 항-CD19 결합 모이어티를 표적화하는 항-이디오타입 항체로 표면 키메라 수용체에 대해 염색된 세포의

유동 세포측정법 분석에 의해 평가된 바와 같은, 지시된 시점의 둘 다의 키메라 수용체에 동일한 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR- 또는 abTCR-형질도입 T 세포 상의 키메라 수용체의 내재화를 나타낸다.

도 23a 및 23b는 둘 다 동일한 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 abTCR (항-CD19 abTCR-6MD) 또는 cTCR (항-CD19-cTCR)이 형질도입된 T 세포의 특성화를 나타낸다. 도 23a는 abTCR 및 cTCR T 세포의 세포 성장을 나타낸다. 도 23b는 모의-형질도입 T 세포 또는 abTCR 또는 cTCR이 형질도입된 T 세포에 의해 매개되는 CD19-양성 암 세포주 Nalm-6 의 사멸을 나타낸다.

도 24는 모의-형질도입 T 세포 또는 둘 다 동일한 항-NY-ESO-1 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR (#35 CAR) 또는 abTCR-6MD (#35 abTCR)이 형질도입된 T 세포에 의해 매개되는 암 세포주 IM9, Colo205, MDA-231, MCF7, JeKo-1, Raji, Hep1, 및 Jurkat의 사멸을 나타낸다.

도 25a는 인간 PBMC로부터 정제된 NKT 세포의 서브세트 상에서의 CD3 및 CD56 발현의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

도 25b는 Raji 또는 Raji-CD19ko 세포주와 공동-배양된, 모의-형질도입 T 세포 또는 항-CD19 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포에 의한 시토카인 IL-2, GM-CSF, IFNɣ, 및 TNFα의 분비 수준을 나타낸다. 대조군은 모의-형질도입 또는 abTCR-형질도입 T 세포 단독, 및 Raji 또는 Raji-CD19ko 세포 단독을 포함하였다.

도 26a는 인간 PBMC로부터 정제된 Treg 세포의 서브세트 상에서의 CD25 및 CD4 발현의 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

도 26b는 Raji 또는 Raji-CD19ko 세포주와 공동-배양된, 모의-형질도입 T 세포 또는 항-CD19 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포에 의한 시토카인 IL-2, GM-CSF, IFNɣ, 및 TNFα의 분비 수준을 나타낸다.

도 27은 모의-형질도입 T 세포 또는 각각에 동일한 항-AFP 결합 모이어티가 있는 다양한 이뮤노글로불린 CH1 도메인이 있는 abTCR이 형질도입된 T 세포에 의해 매개되는 암 세포주 HepG2, SK-Hep1, 및 SK-Hep1-AFP MG의 사멸을 나타낸다.

도 28은 하나 이상의 공동-자극성 도메인을 함유하는 다양한 abTCR 구축물 디자인 (abTCR-6M-1, abTCR-6M-2, abTCR-6M-3, abTCR-6M-4, abTCR-6M-5, abTCR-6M-6, abTCR-6M-7, abTCR-6M-8)의 개략도를 나타낸다.

도 29는 모의-형질도입 T 세포 또는 각각에 동일한 항-AFP 결합 모이어티가 있는 하나 이상의 C-말단 공동-자극성 도메인이 있는 다양한 abTCR이 형질도입된 T 세포에 의해 매개되는 암 세포주 HepG2, SK-Hep1, 및 SK-Hep1-AFP MG의 사멸을 나타낸다.

도 30은 SK-Hep1 또는 SK-Hep1-AFP MG 세포주와 공동-배양된, 모의-형질도입 T 세포 또는 각각에 동일한 항-AFP 결합 모이어티가 있는 하나 이상의 C-말단 공동-자극성 도메인이 있는 다양한 abTCR이 형질도입된 T 세포에 의한 시토카인 IL-2, GM-CSF, IFNɣ, 및 TNFα의 분비 수준을 나타낸다.

도 31은 모의-형질도입 T 세포 또는 각각에 동일한 항-CD19 결합 모이어티가 있는 하나 이상의 C-말단 공동-자극성 도메인이 있는 다양한 abTCR이 형질도입된 T 세포에 의해 매개되는 암 세포주 Raji, Raji-CD19ko, 및 JeKo-1의 사멸을 나타낸다.

도 32는 Raji, Raji-CD19ko, 또는 JeKo-1 세포와 공동-배양된, 모의-형질도입 T 세포 또는 각각에 동일한 항-CD19 결합 모이어티가 있는 하나 이상의 C-말단 공동-자극성 도메인이 있는 다양한 abTCR이 형질도입된 T 세포에 의한 시토카인 IL-2, GM-CSF, IFNɣ, 및 TNFα의 분비 수준을 나타낸다.

도 33은 모의-형질도입 T 세포 또는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포의 정맥내 주사로 처리된 SK-HEP-1-AFP-MG의 피하 마우스 이종이식 모델에서의 시간에 따른 체중 변화를 나타낸다.

도 34a는 모의-형질도입 T 세포 또는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포의 정맥내 주사로 처리된 SK-HEP-1-AFP-MG의 피하 마우스 모델에서의 종양 성장을 나타낸다.

도 34b는 처리되지 않았거나 또는 평균 종양 부피가 300 mm^3에 도달했을 때 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포가 종양 내로 1회 주사된 SK-HEP-1-AFP-MG의 피하 마우스 모델에서의 종양 성장을 나타낸다.

도 35는 다양한 항-CD19 abTCR (클론 5, 5-3, 5-9, 및 5-14)이 형질도입된 T 세포로 처리된 리포터 Raji 정맥

내 이종이식 마우스에서의 종양 성장을 나타낸다. 모의-형질도입 T-세포 처리 및 T 세포 처리하지 않음이 대조군으로서 포함되었다.

도 36은 모의-형질도입 T 세포 또는 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포가 주사된 Raji 이종이식 마우스에서의 IL-2, IFN-γ, TNF-α, 및 IL-10의 혈청 수준을 나타낸다.

도 37은 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포로 처리된 리포터 Raji 이종이식 마우스에서의 종양 성장의 정량화를 나타낸다. 모의-형질도입 T-세포가 대조군으로서 포함되었다.

도 38은 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포로 처리된 리포터 Raji 이종이식 마우스에서의 종양-유래 생체발광에 대한 영상화 결과를 나타낸다. 모의-형질도입 T-세포가 대조군으로서 포함되었다. 그레이-스케일로 변환된 히트맵은 마우스 영상 상에 겹쳐진 진한 지점으로 나타나는 종양 위치에서의 초당 총 광자를 가리킨다.

도 39는 최초의 종양 세포 이식 및 클론 5-13 항-CD19 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포로의 처리 7주 후에 종양 세포가 재-챌린지된 리포터 Raji 이종이식 마우스에서의 종양 성장의 정량화를 나타낸다. 모의-형질도입 T-세포가 대조군으로서 포함되었다.

도 40은 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포로 처리된 리포터 NALM-6 정맥내 이종이식 마우스에서의 종양 성장을 나타낸다. 모의-형질도입 T-세포 및 T 세포 처리하지 않음이 대조군으로서 포함되었다.

도 41은 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 세포가 주사된 NALM-6 이종이식 마우스에서의 IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN-γ, 및 TNF-α의 혈청 수준을 나타낸다. 모의-형질도입 T-세포 및 T 세포 처리하지 않음이 대조군으로서 포함되었다.

도 42는 처리 7일 후 및 13일 후의 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 세포가 주사된 NALM-6 이종이식 마우스로부터의 혈액 내의 키메라 수용체-양성 T 세포의 양을 나타낸다.

도 43은 처리 13일 후의 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 세포가 주사된 NALM-6 이종이식 마우스로부터의 혈액 내의 종양 세포에 대한 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

도 44는 처리 13일 후의 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 세포가 주사된 NALM-6 이종이식 마우스로부터의 골수 내의 종양 세포에 대한 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

도 45는 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 세포가 주사된 NALM-6 이종이식 마우스로부터의 혈액 내의 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$인 $CD3^+$ T 세포 상에서의 PD-1 발현에 대한 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

도 46은 둘 다 클론 5-13 항-CD19 결합 모이어티 가변 도메인이 있는 CAR 또는 abTCR-6MD가 형질도입된 세포가 주사된 NALM-6 이종이식 마우스로부터의 골수 내의 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$인 $CD3^+$ T 세포 상에서의 PD-1 발현에 대한 유동 세포측정법 분석을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047] 본 출원은 a) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티, 예컨대 Fab 또는 Fv 단편; 및 b) 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈 (TCRM)을 포함하는 단리된 키메라 항체/T 세포 수용체 구축물 (본원에서 "abTCR"로 지칭됨)을 제공한다.

[0048] 본 발명자들은 본 발명자들의 TCR-유사 mAb, 뿐만 아니라 통상적인 mAb의 결합 특이성 및 친화력을 TCR이 부여하는 표적-특이적 세포독성 효능 및 제어된 활성화과 조합하는 일련의 신규한 합성 키메라 항체/TCR 구축물을 개발하였다. abTCR을 발현하도록 형질도입된 1차 T 세포가 내인성 CD3 분자와 회합된 안정적인 TCR-유사 신호전달 복합체의 효율적인 표면 발현 및 형성을 나타냈다. T 세포 내로 조작되었을 때, MHC-의존적 (펩티드/MHC

항원) 및 MHC-비의존적 (세포-표면 항원) 형상 둘 다에서 abTCR이 시험관내 및 생체내 둘 다에서 표적-보유 종양 세포에 대한 강력한 세포독성을 T 세포에 부여하였다. CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, 천연 킬러 T (NKT) 세포, 및 조절 T (Treg) 세포를 포함하여, abTCR을 발현하도록 형질도입된 여러 상이한 T 세포 서브세트에 대해 표적-특이적 활성화가 관찰되었다. 추가적으로, 세포내 공동-자극성 서열을 포함하는 abTCR이 어떠한 공동-자극성 서열도 없는 상응하는 abTCR만큼, 그리고 일부 경우에는 이보다 더 양호하게 수행하는 것으로 발견되었다.

[0049] CAR T 세포 요법으로 입증된 현저한 치유 잠재력에도 불구하고, 임상 시험은 과도한 시토카인 방출 및 제어되지 않은 T-세포 증식과 연관된 중증 유해 사례를 계속 유발한다. 이론에 제한되지 않으면서, T-세포-매개 사멸을 활성화하기 위해 내인성 CD3 복합체와의 어셈블리를 필요로 하여, TCR 활성화를 제어하는 천연 발생 기구에 의해 abTCR이 조절될 수 있고, 따라서 구성적으로 활성화되는 것을 피할 수 있는 것으로 여겨진다. 본 발명자들은 abTCR 구축물이 형질도입된 T 세포가 동일한 항체 가변 영역을 보유하는 상응하는 키메라 항원 수용체 (CAR)가 형질도입된 T 세포보다 더 낮은 수준의 시토카인 (예를 들어, IL-2) 및 T 세포 고갈 마커 (예를 들어, PD-1, TIM3, 및 LAG1)를 발현하는 한편, 암 세포 사멸에서의 효능이 등가임을 발견하였다. 따라서 이러한 전략은 CAR을 사용하는 것에 비해 의미있는 기술적 장점을 제공하여, T 세포의 세포독성 신호전달이 내인성 T-세포 조절 기구에 반응하고 생체내에서 더 길게 기능적으로 지속되는 잠재력이 있는 T 세포를 산출한다. 특이적 항원, 예컨대 세포 표면 항원 또는 펩티드/MHC 복합체에 대한 모노클로날 항체의 정교하게 최적화된 결합을 T 세포 수용체가 내인성 신호전달 복합체를 결속시켜 면역 세포를 활성화시키는 능력과 조합함으로써, 본 발명은 카피수가 낮은 세포 표면 항원, 뿐만 아니라 펩티드/MHC 복합체를 통해 세포내 또는 분비 항원을 고도로 특이적이고 강력하게 표적화하는 것을 허용한다.

[0050] 따라서 본 출원은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티 및 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 포함하는 abTCR (예컨대 단리된 abTCR)을 제공한다. abTCR은 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 이종이량체일 수 있다. 항체 모이어티는 중쇄 가변 항체 도메인 (V_H) 및 경쇄 가변 항체 도메인 (V_L)을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 모이어티는 하나 이상의 항체 중쇄 불변 도메인, 예컨대 중쇄 불변 1 항체 도메인 (C_H1) 및/또는 경쇄 불변 항체 도메인 (C_L)을 추가로 포함한다. TCRM은 제1 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 T 세포 수용체 도메인 (TCRD), 및 제2 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함한다. abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결될 수 있다. 예시적인 abTCR 구축물 디자인에 대해 도 1a를 참조한다.

[0051] 또 다른 측면에서, abTCR을 코딩하는 하나 이상의 핵산이 제공된다.

[0052] 또 다른 측면에서, abTCR 및 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 포함하는 복합체 (본원에서 "abTCR-CD3 복합체"로 지칭됨)가 제공된다. 복합체는 4개의 이량체 abTCR, CD3δε, CD3γε, 및 ζζ를 포함하는 팔량체일 수 있다. abTCR 또는 abTCR-CD3 복합체를 발현하거나 또는 그와 회합된 이펙터 세포, 예컨대 T 세포가 또한 제공된다.

[0053] 또 다른 측면에서, abTCR을 포함하는 조성물이 제공된다. 조성물은 abTCR 또는 abTCR을 발현하거나 또는 그와 회합된 이펙터 세포 (예를 들어 abTCR을 발현하는 T 세포)를 포함하는 제약 조성물일 수 있다.

[0054] 치료 목적을 위해 abTCR (또는 abTCR을 발현하거나 또는 그와 회합된 세포)을 제조 및 사용하는 방법, 뿐만 아니라 이러한 방법에 유용한 키트 및 제조 물품이 또한 제공된다. abTCR (또는 abTCR을 발현하거나 또는 그와 회합된 세포)을 사용하여 질환을 치료하는 방법이 추가로 제공된다.

[0055] **정의**

[0056] 본원에서 사용된 바와 같이, "치료" 또는 "치료하는"은 임상 결과를 포함하여 유익하거나 또는 원하는 결과를 수득하기 위한 접근법이다. 본 발명의 목적을 위해, 유익하거나 또는 원하는 임상 결과는 하기 중 하나 이상을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: 질환으로부터 초래되는 하나 이상의 증상을 경감시킴, 질환 정도를 감소시킴, 질환을 안정화시킴 (예를 들어, 질환 악화를 방지하거나 지연시킴), 질환 확산 (예를 들어, 전이)을 방지하거나 지연시킴, 질환 재발생을 방지하거나 지연시킴, 질환 진행을 지연시키거나 둔화시킴, 질환 상태를 호전시킴, 질환 완화 (부분적 또는 전체적)를 제공함, 질환을 치료하는데 요구되는 하나 이상의 다른 의약의 용량을 감소시킴, 질환 진행을 지연시킴, 삶의 질을 증가시키거나 개선함, 체중 증가를 증가시킴, 및/또는 생존을 연장함. "치료"에는 질환의 병리학적 결과 (예를 들어, 암에서의 종양 부피)의 감소가 또한 포함된다. 본 발명의 방법은 치료의 이러한 측면들 중 임의의 하나 이상을 구상한다.

[0057] 용어 "재발생", "재발" 또는 "재발성"은 질환 소멸의 임상 평가 후의 암 또는 질환의 복귀를 지칭한다. 원위부 전이 또는 국소적 재발생의 진단이 재발로 간주될 수 있다.

[0058] 용어 "불응성" 또는 "저항성"은 치료에 반응하지 않은 암 또는 질환을 지칭한다.

[0059] T 세포와 관련하여 본원에서 사용된 바와 같은 "활성화"는 검출가능한 세포 증식을 유도하도록 충분히 자극되어 있는 T 세포의 상태를 지칭한다. 활성화는 시토카인 생산 유도, 및 검출가능한 이펙터 기능과 또한 연관될 수 있다.

[0060] 용어 "항체" 또는 "항체 모이어티"는 전장 항체 및 그의 항원-결합 단편을 포함한다. 전장 항체는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함한다. 경쇄 및 중쇄의 가변 영역은 항원-결합을 담당한다. 일반적으로 양쪽 쇄 내의 가변 영역은 상보성 결정 영역 (CDR)으로 칭해지는 3개의 고도로 가변성인 루프를 함유한다 (경쇄 (LC) CDR은 LC-CDR1, LC-CDR2, 및 LC-CDR3을 포함하고, 중쇄 (HC) CDR은 HC-CDR1, HC-CDR2, 및 HC-CDR3을 포함한다). 본원에 개시된 항체 및 항원-결합 단편에 대한 CDR 경계는 카바트(Kabat), 코티아(Chothia), 또는 알-라지카니(Al-Lazikani)의 관례에 의해 정의 또는 확인될 수 있다 (Al-Lazikani 1997; Chothia 1985; Chothia 1987; Chothia 1989; Kabat 1987; Kabat 1991). 중쇄 또는 경쇄의 3개의 CDR은 프레임워크 영역 (FR)으로 공지된 측면의 신장물들 사이에 놓이며, 이는 CDR보다 더욱 고도로 보존되고, 초가변 루프를 지지하는 스캐폴드를 형성한다. 중쇄 및 경쇄의 불변 영역은 항원-결합에 수반되지 않지만, 다양한 이펙터 기능을 나타낸다. 항체는 그의 중쇄의 불변 영역의 아미노산 서열을 기초로 클래스에 할당된다. 항체의 5가지 주요 클래스 또는 아이소형은 IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM이고, 이들은 각각 α, δ, ε, γ, 및 μ 중쇄의 존재를 특징으로 한다. 주요 항체 클래스 중 몇몇은 서브클래스 예컨대 IgG1 (γ1 중쇄), IgG2 (γ2 중쇄), IgG3 (γ3 중쇄), IgG4 (γ4 중쇄), IgA1 (α1 중쇄), 또는 IgA2 (α2 중쇄)로 분류된다.

[0061] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "항원-결합 단편"은, 예를 들어, 디아바디(diabody), Fab, Fab', F(ab')2, Fv 단편, 디술피드 안정화 Fv 단편 (dsFv), (dsFv)2, 이중특이적 dsFv (dsFv-dsFv'), 디술피드 안정화 디아바디 (ds 디아바디), 단일쇄 항체 분자 (scFv), scFv 이량체 (2가 디아바디), 하나 이상의 CDR을 포함하는 항체의 일부분으로부터 형성된 다중특이적 항체, 낙타화 단일 도메인 항체, 나노바디, 도메인 항체, 2가 도메인 항체, 또는 항원에 결합하지만 완전한 항체 구조를 포함하지 않는 임의의 다른 항체 단편을 포함하는 항체 단편을 지칭한다. 항원-결합 단편은 모체 항체 또는 모체 항체 단편 (예를 들어, 모체 scFv)이 결합하는 것과 동일한 항원에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항원-결합 단편은 하나 이상의 상이한 인간 항체로부터의 프레임워크 영역에 그래프트된 특정한 인간 항체로부터의 하나 이상의 CDR을 포함할 수 있다.

[0062] "Fab-유사 항원-결합 모듈"은 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 항체 모이어티를 지칭하고, 여기서 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 V_L 항체 도메인, C_L 항체 도메인, V_H 항체 도메인, 및 C_H1 항체 도메인을 포함한다. V_L 및 C_L 항체 도메인이 하나의 쇄 상에 있으면서 V_H 및 C_H1 항체 도메인이 다른 쇄 상에 있을 수 있거나, 또는 V_L 및 C_H1 항체 도메인이 하나의 쇄 상에 있으면서 V_H 및 C_L 항체 도메인이 다른 쇄 상에 있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 디술피드 결합에 의해 연결된다.

[0063] 본원에서 사용된 바와 같이, 제1 항체 모이어티가 제2 항체 모이어티의 표적 항원-결합을 등몰 농도의 제1 항체 모이어티의 존재 하에 적어도 약 50% (예컨대 적어도 약 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 중 임의의 것)만큼 억제할 때, 또는 그 반대일 때, 제1 항체 모이어티가 표적 항원에 결합하는 것에 대해 제2 항체 모이어티와 "경쟁"한다. 항체의 교차-경쟁을 기초로 이들을 "비닝"하는 고처리량 공정이 PCT 공보 번호 WO 03/48731에 기술되어 있다.

[0064] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "특이적으로 결합한다" 또는 "에 대해 특이적이다"는 생물학적 분자를 포함하는 분자들의 불균질 집단의 존재 하에서의 표적의 존재를 결정짓는, 측정가능하고 재현가능한 상호작용, 예컨대 표적과 항체 또는 항체 모이어티 사이의 결합을 지칭한다. 예를 들어, 표적 (에피토프일 수 있음)에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티는 다른 표적에 대한 그의 결합보다 더 큰 친화력, 결합력으로, 더 용이하게, 및/또는 더 긴 기간 동안 표적에 결합하는 항체 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 항원에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티는 다른 표적에 대한 결합 친화력보다 적어도 약 10배인 결합 친화력으로 항원 (예를 들어 세포 표면 항원 또는 펩티드/MHC 단백질 복합체)의 하나 이상의 항원 결정기와 반응한다.

[0065] 용어 "T 세포 수용체", 또는 "TCR"은 T 세포의 표면 상에서 쌍을 이룬 αβ 또는 γδ 쇄로 구성된 이종이량체성 수용체를 지칭한다. α, β, γ, 및 δ 쇄 각각은 2개의 Ig-유사 도메인으로 구성된다: 상보성 결정 영역

(CDR)을 통해 항원 인식을 부여하는 가변 도메인 (V)에 연결 펩티드 및 막횡단 (TM) 영역에 의해 세포 막에 고정된 불변 도메인 (C)이 이어짐. TM 영역은 CD3 신호전달 기구의 불변 서브유닛과 회합된다. 각각의 V 도메인에는 3개의 CDR이 있다. 이러한 CDR은 주요 조직적합성 복합체가 코딩하는 단백질에 결합된 항원성 펩티드 사이의 복합체 (pMHC)와 상호작용한다 (Davis and Bjorkman (1988) Nature, 334, 395-402; Davis et al. (1998) Annu Rev Immunol, 16, 523-544; Murphy (2012), xix, 868 p.).

[0066] 용어 "TCR-연관 신호전달 모듈"은 TCR-CD3 복합체의 일부인 세포질 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)가 있는 분자를 지칭한다. TCR-연관 신호전달 모듈은 CD3γε, CD3δε, 및 ζζ를 포함한다.

[0067] 단백질 또는 단백질의 일부분을 지칭할 때의 용어 "모듈"은 단백질 또는 단백질의 일부분이 복수의 폴리펩티드 쇄를 포함한다는 것을 의미한다 (예를 들어, 이량체성 단백질 또는 이량체성 단백질의 일부분). 복수의 폴리펩티드 쇄는 예컨대 링커 (예를 들어, 펩티드 링커) 또는 화학 결합 (예를 들어, 펩티드 결합)에 의해 연결될 수 있다. "모듈"은 단백질을 구성하는 하나 이상의 폴리펩티드의 구조적으로 및/또는 기능적으로 관련된 부분들을 포함하는 것을 의미한다. 예를 들어, 이량체성 수용체의 막횡단 모듈은 막에 걸쳐진 수용체의 각각의 폴리펩티드 쇄의 일부분을 지칭할 수 있다. 모듈은 단일 폴리펩티드 쇄의 관련된 부분들을 지칭할 수도 있다. 예를 들어, 단량체성 수용체의 막횡단 모듈은 막에 걸쳐진 수용체의 단일 폴리펩티드 쇄의 일부분을 지칭할 수 있다.

[0068] 용어 "T 세포 수용체 모듈", 또는 "TCRM"은 T 세포 수용체로부터 유래된 서열을 포함하는 이종이량체를 지칭한다. TCRM은 T 세포 수용체 막횡단 도메인을 포함하고, T 세포 수용체 연결 펩티드 및/또는 세포내 도메인 전체 또는 그의 일부분을 추가로 포함할 수 있다.

[0069] 본원에서 사용된 바와 같은 "단리된" 구축물 (예컨대 abTCR)은 (1) 천연에서 발견되는 단백질과 회합되지 않거나, (2) 동일한 공급원로부터의 다른 단백질이 없거나, (3) 상이한 종으로부터의 세포에 의해 발현되거나, 또는 (4) 천연에서 발생하지 않는 구축물을 지칭한다.

[0070] 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "단리된 핵산"은 게놈, cDNA, 또는 합성 기원의 핵산 또는 이들의 일부 조합을 의미하는 것으로 의도되고, 그의 기원에 의해 "단리된 핵산"은 (1) "단리된 핵산"이 천연에서 발견되는 폴리뉴클레오티드 전체 또는 그의 일부분과 회합되지 않거나, (2) 천연에서 연결되지 않는 폴리뉴클레오티드에 작동가능하게 연결되거나, 또는 (3) 천연에서 더 큰 서열의 일부로서 발생하지 않는다.

[0071] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"은 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견되는 비-인접 항원 조합 부위를 의미하도록 의도된다. 이러한 특정한 영역은 문헌 [Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977)]; [Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991)]; [Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)]; 및 [MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)]에 기술된 바 있고, 이러한 정의들은 서로에 대해 비교했을 때의 아미노산 잔기의 중첩 또는 서브세트를 포함한다. 그럼에도 불구하고, 어느 하나의 정의를 적용하여 항체 또는 그래프트된 항체 또는 그의 변이체의 CDR을 지칭하는 것이 본원에서 정의 및 사용된 바와 같은 용어의 범주 내인 것으로 의도된다. 상기 인용된 참고문헌 각각에 의해 정의된 바와 같은 CDR을 포함하는 아미노산 잔기가 비교로서 하기에서 표 1에 기재된다.

[0072] **표 1: CDR 정의**

	카바트[1]	코티아[2]	맥칼럼[3]
V_H CDR1	31-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	53-55	47-58
V_H CDR3	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	89-97	91-96	89-96

[0073]

[0074] [1]잔기 넘버링은 [Kabat *et al.*, 상기 문헌]의 명명법을 따른다.

[0075] [2]잔기 넘버링은 [Chothia *et al.*, 상기 문헌]의 명명법을 따른다.

[0076] [3]잔기 넘버링은 [MacCallum *et al.*, 상기 문헌]의 명명법을 따른다.

[0077] 용어 "키메라 항체"는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분은 특정한 종으로부터 유래되거나 또는 특정한 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 한편, 쇄(들)의 나머지는 또 다른 종으로부터 유래되거나 또는 또 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 항체를 지칭할 뿐만 아니라, 이러한 항체의 단편도 지칭하고, 단 이들은 본 발명의 생물학적 활성을 나타낸다 (미국 특허 번호 4,816,567; 및 문헌 [Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)] 참조).

[0078] 항체 또는 항체 모이어티에 관련된 용어 "반-합성"은 항체 또는 항체 모이어티에 하나 이상의 천연 발생 서열 및 하나 이상의 비-천연 발생 (즉, 합성) 서열이 있다는 것을 의미한다.

[0079] 항체 또는 항체 모이어티에 관련된 용어 "완전 합성"은 항체 또는 항체 모이어티에 고정되고, 대부분 또는 모두 천연 발생인 V_H/V_L 프레임워크 쌍이 있지만, 중쇄 및 경쇄 둘 다의 6개의 CDR 모두의 비-천연 발생 (즉, 합성) 서열이 있다는 것을 의미한다. 비-천연 발생 CDR은 변형된 인간 CDR 서열, 예컨대 보존적 아미노산 치환 또는 시스테인 잔기 도입에 의해 변형된 CDR 서열을 포함하는 것들을 포함한다.

[0080] 비-인간 (예를 들어, 설치류) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 항체로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분의 경우에, 인간화 항체는 수용자의 초가변 영역 (HVR)으로부터의 잔기가 원하는 항체 특이성, 친화력 및 능력을 지니는 비-인간 종 (공여자 항체) 예컨대 마우스, 래트, 토끼 또는 비-인간 영장류의 초가변 영역으로부터의 잔기로 교체되어 있는 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 프레임워크 영역 (FR) 잔기가 상응하는 비-인간 잔기로 교체된다. 추가로, 인간화 항체는 수용자 항체에서 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 추가로 항체 성능을 정련하기 위해 이루어진다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나, 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체는 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc), 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 것의 적어도 일부분을 또한 임의적으로 포함할 것이다. 추가적인 상세사항에 대해, 문헌 [Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986)]; [Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988)]; 및 [Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)]을 참조한다.

[0081] "상동성"은 2개의 폴리펩티드 또는 2개의 핵산 분자 사이의 서열 유사성 또는 서열 동일성을 지칭한다. 비교되는 2개의 서열 둘 다 내의 위치를 동일한 염기 또는 아미노산 단량체 서브유닛이 점유할 때, 예를 들어, 2개의 DNA 분자 각각 내의 위치를 아데닌이 점유하면, 분자들이 이러한 위치에서 "상동성"이다. 2개의 서열 사이의 "상동성 퍼센트" 또는 "퍼센트 서열 동일성"은 2개의 서열이 공유하는 부합되거나 상동성인 위치의 개수를 비교되는 위치의 개수로 나누고 100을 곱한 함수이고, 임의의 보존적 치환은 서열 동일성의 일부로 간주된다. 예를 들어, 2개의 서열 내의 10개의 위치 중 6개가 부합되거나 상동성이면, 2개의 서열은 60% 상동성이다. 예를 들어, DNA 서열 ATTGCC 및 TATGGC는 50% 상동성을 공유한다. 일반적으로, 2개의 서열이 최대 상동성을 제공하도록 정렬되었을 때 비교가 이루어진다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적의 정렬은 관련 분야의 기술 내에 있는 다양한 방식으로, 예를 들어, 공개적으로 입수가능한 컴퓨터 소프트웨어 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN, Megalign (DNASTAR), 또는 MUSCLE 소프트웨어를 사용하여 달성될 수 있다. 관련 분야의 기술자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 정렬을 측정하기 위한 적합한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 본원에서의 목적을 위해, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 MUSCLE를 사용하여 생성된다 (Edgar, R.C., *Nucleic Acids Research* 32(5):1792-1797, 2004; Edgar, R.C., *BMC Bioinformatics* 5(1):113, 2004).

[0082] 인간 IgG의 "C_H1 도메인" ("H1" 도메인의 "C1"로도 지칭됨)은 일반적으로 약 아미노산 118부터 약 아미노산 215 ((EU 넘버링 시스템)에 걸쳐진다.

[0083] 달리 상술되지 않는 한, "아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열"은 서로의 축중성 버전이고 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 모든 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열이 일부 버전에서 인트론(들)을 함유할 수 있다는 점에서, 단백질 또는 RNA를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이라는 구절은 인트론을 또한 포함할 수 있다.

[0084] 용어 "작동가능하게 연결된"은 조절 서열과 이종성 핵산 서열 사이의 기능적인 연결이 후자의 발현을 초래하는

것을 지칭한다. 예를 들어, 제1 핵산 서열이 제2 핵산 서열과 기능적인 관계로 놓이는 경우에 제1 핵산이 제2 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 것이다. 예를 들어, 프로모터가 코딩 서열의 전사 또는 발현에 영향을 미치면 프로모터가 코딩 서열에 작동가능하게 연결된 것이다. 일반적으로, 작동가능하게 연결된 DNA 서열은 인접하고, 2개의 단백질 코딩 영역을 연결하기 위해 필요한 경우에는, 동일한 리딩 프레임 내에 있다.

[0085] 용어 "유도성 프로모터"는 하나 이상의 특정 신호를 부가하거나 제거하는 것에 의해 활성이 조절될 수 있는 프로모터를 지칭한다. 예를 들어, 유도성 프로모터는 특정 세트의 조건 하에, 예를 들어, 프로모터를 활성화시키고/거나 프로모터 억제를 해소시키는 유도제의 존재 하에, 작동가능하게 연결된 핵산의 전사를 활성화시킬 수 있다.

[0086] 본원에 개시된 바와 같은 abTCR 또는 abTCR을 포함하는 조성물의 "유효량"은 구체적으로 언급된 목적을 수행하는데 충분한 양이다. "유효량"은 경험적으로, 그리고 언급된 목적에 관련된 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0087] 용어 "치료적 유효량"은 개체에서 질환 또는 장애를 "치료"하는데 효과적인, 본원에 개시된 바와 같은 abTCR 또는 abTCR을 포함하는 조성물의 양을 지칭한다. 암의 경우, 치료적 유효량의 본원에 개시된 바와 같은 abTCR 또는 abTCR을 포함하는 조성물은 암 세포의 개수를 감소시킬 수 있고/거나; 종양 크기 또는 중량을 감소시킬 수 있고/거나; 말초 기관 내로의 암 세포 침윤을 억제할 수 있고/거나 (즉, 어느 정도 둔화시키고, 바람직하게는 정지시킴); 종양 전이를 억제할 수 있고/거나 (즉, 어느 정도 둔화시키고, 바람직하게는 정지시킴); 종양 성장을 어느 정도 억제할 수 있고/거나; 암과 연관된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 해소시킬 수 있다. 본원에 개시된 바와 같은 abTCR 또는 abTCR을 포함하는 조성물이 기존 암 세포의 성장을 방지할 수 있고/거나 이를 사멸시킬 수 있다는 점에서, 이는 세포증식억제성 및/또는 세포독성일 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효량은 성장 억제성인 양이다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효량은 환자의 무진행 생존을 개선하는 양이다. 감염성 질환, 예컨대 바이러스성 감염의 경우에, 치료적 유효량의 본원에 개시된 바와 같은 abTCR 또는 abTCR을 포함하는 조성물은 병원체에 감염된 세포의 수를 감소시킬 수 있고/거나; 병원체-유래 항원의 생산 또는 방출을 감소시킬 수 있고/거나; 병원체가 미감염 세포로 확산되는 것을 억제할 수 있고/거나 (즉, 어느 정도 둔화시키고, 바람직하게는 정지시킴); 감염과 연관된 하나 이상의 증상을 어느 정도 해소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료적 유효량은 환자 생존을 연장시키는 양이다.

[0088] 본원에서 사용된 바와 같이, "제약상 허용되는" 또는 "약리학상 상용성인"은 생물학적으로 또는 다른 방식으로 바람직하지 않지 않은 물질을 의미하고, 예를 들어, 이러한 물질은 어떠한 유의한 원치 않는 생물학적 효과도 야기하지 않으면서 또는 자신이 함유된 조성물의 다른 성분 중 어느 것과도 해로운 방식으로 상호작용하지 않으면서 환자에게 투여되는 제약 조성물 내로 혼입될 수 있다. 제약상 허용되는 담체 또는 부형제는 바람직하게는 독성학적 및 제작 테스트의 요구되는 표준을 충족시켰고/거나, 미국 식품의약청이 작성한 불활성 성분 안내서 (Inactive Ingredient Guide) 상에 포함된다.

[0089] 본원에 기술된 발명의 실시양태는 "로 이루어진" 및/또는 "로 본질적으로 이루어진" 실시양태를 포함하는 것으로 이해된다.

[0090] 본원에서 값 또는 파라미터에 대해 "약"이 언급되는 것은 이러한 값 또는 파라미터 자체에 대해 지시되는 변이를 포함한다 (그리고 이를 기술한다). 예를 들어, "약 X"를 지칭하여 기술하는 것은 "X"를 기술하는 것을 포함한다.

[0091] 본원에서 사용된 바와 같이, 값 또는 파라미터에 대해 "아님/않음"이 언급되는 것은 일반적으로 값 또는 파라미터 "이외의 것"을 의미하고, 이를 기술한다. 예를 들어, 방법이 X 유형의 암을 치료하는데 사용되지 않는다는 것은 방법이 X 이외의 유형의 암을 치료하는데 사용된다는 것을 의미한다.

[0092] 본원 및 첨부된 청구범위에서 사용된 바와 같이, 단수형 형태는 문맥적으로 명확하게 달리 지시되지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다.

[0093] **키메라 항체/T 세포 수용체 구축물**

[0094] 한 측면에서, 본 발명은 표적 항원 (예컨대 세포 표면 항원 또는 펩티드/MHC 복합체)에 특이적으로 결합하고 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈 (예컨대 CD3δε, CD3γε, 또는 ζζ)을 동원할 수 있는 표적 항원-특이적 키메라 항체/T 세포 수용체 (abTCR)를 제공한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 폴

리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 이종이량체이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 적어도 하나의 디술피드 결합에 의해 연결된다. 표적 항원에 대한 결합 특이성을 부여하는 항체 모이어티로부터 abTCR의 특이성이 유래된다. 일부 실시양태에서, 항체 모이어티는 V_H, C_H1, V_L, 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 Fab-유사 항원-결합 모듈이다. 일부 실시양태에서, 항체 모이어티는 V_H 및 V_L 항체 도메인을 포함하는 Fv-유사 항원-결합 모듈이다. abTCR이 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원하는 능력은 T 세포 수용체 모듈 (TCRM)로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR (예컨대 αβTCR 또는 γδTCR)의 막횡단 모듈을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 연결 펩티드 또는 그의 단편 중 하나 또는 둘 다를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 모듈 및 연결 펩티드 또는 그의 단편은 동일한 TCR 유형 (αβ 또는 γδ)으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 막횡단 모듈은 αβ TCR로부터 유래되고 연결 펩티드 또는 그의 단편은 γδ TCR로부터 유래되거나, 또는 막횡단 모듈은 γδ TCR로부터 유래되고 연결 펩티드 또는 그의 단편은 αβ TCR로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 적어도 하나의 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR의 적어도 하나의 세포내 도메인 중 하나 이상은 TCR의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR의 적어도 하나의 세포내 도메인 중 하나 이상은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열을 포함한다. 공동자극성 신호전달 서열은 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, ICOS, 림프구 기능-연관 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, 특이적으로 CD83과 결합하는 리간드 등을 예를 들어 포함하는 공동자극성 분자의 세포내 도메인의 일부분일 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 모이어티는 abTCR의 세포외 도메인 내에 함유된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 세포외 도메인의 길이를 최적화하도록 항체 모이어티와 TCRM 사이에 하나 이상의 펩티드 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모듈 (예컨대 Fab-유사 또는 Fv-유사 항원-결합 모듈)에 대한 언급은 항원-결합 모듈이 a) 다른 분자에 대한 결합 친화력의 적어도 약 10배 (예를 들어 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000배 또는 그 초과 중 임의의 것을 포함함)인 친화력; 또는 b) 다른 분자에 결합하는 것에 대한 K_d의 약 1/10 이하 (예컨대 약 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50, 1/75, 1/100, 1/200, 1/300, 1/400, 1/500, 1/750, 1/1000 또는 그 미만인 값 중 임의의 것 이하)의 배수인 K_d로 표적 항원에 결합한다는 것을 의미한다. 관련 분야에 공지된 방법, 예컨대 ELISA, 형광 활성화 세포 분류 (FACS) 분석, 또는 방사성 면역침전 검정법 (RIA)에 의해 결합 친화력을 결정할 수 있다. 관련 분야에 공지된 방법, 예컨대 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 검정법 (예를 들어, 비아코어(Biacore) 기기를 사용함), 또는 동역학적 배제 검정법 (KinExA) (예를 들어, 사피다인(Sapidyne) 기기를 사용함)에 의해 K_d를 결정할 수 있다.

[0095] 구상되는 abTCR 구축물은, 예를 들어, 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR, 및 세포 표면-제시 펩티드/MHC 복합체에 특이적으로 결합하는 abTCR을 포함한다.

[0096] 일부 실시양태에서, abTCR은 a) V_H 항체 도메인 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 항체 도메인 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인은 C_H1 항체 도메인의 아미노-말단에 V_H 항체 도메인을 포함하고/거나 제2 항원-결합 도메인은 C_L 항체 도메인의 아미노 말단에 V_L 항체 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인과 C_L 항체 도메인 사이의 펩티드 링커 및/또는 V_H 항체 도메인과 C_H1 항체 도메인 사이의 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 모든 V_L 항체 도메인 및 V_H 항체 도메인 CDR이 동일한 항체 모이어티로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인 및 V_H 항체 도메인은 1개를 초과하는 항체 모이어티로부터 유래된 항체 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인은 V_H 항체 도메인으로부터 유래된 항체 CDR을 포함하고/거나, V_H 항체 도메인은 V_L 항체 도메인으로부터 유래된 항체 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인은 하나의 항체로부터 유래된 프레임워크 영역 및 또 다른 항체로부터 유래된 하나 이상의 CDR을 포함하고/거나, V_H 항체 도메인은 하나의 항체로부터 유래된 프레임워크 영역 및 또 다른 항체로부터 유래된 하나 이상의 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 항원-결합 도메인은 디술피드 결합에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 항원-결합 도메인은 C_H1 도메인 내의 잔기와 C_L 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 IgG (예를 들어, IgG1, IgG2,

IgG3, 또는 IgG4), IgA (예를 들어, IgA1 또는 IgA2), IgD, IgM, 또는 IgE 중쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 서열식별번호(SEQ ID NO): 39 및 60-69 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 카파 또는 람다 경쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, C_H1 및/또는 C_L 도메인은 서로에 대한 결합 친화력을 실질적으로 변경시키지 않는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, C_H1 및/또는 C_L 도메인은 서로에 대한 결합 친화력을 증가시키고/거나 비-천연 발생 디술피드 결합을 도입하는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, C_H1 및 C_L 도메인은 놉-인투-홀(knob-into-hole) 변형을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Carter P. *J Immunol Methods*. 248:7-15, 2001] 참조). 일부 실시양태에서, C_H1 및 C_L 도메인은 서로와의 회합을 강화하도록 정전기 조종에 의해 변형된다 (예를 들어, WO2006106905 및 문헌 [Gunasekaran K, *et al. J Biol Chem*. 285:19637-46, 2010] 참조). 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다.

[0097] 일부 실시양태에서, abTCR은 a) V_L 항체 도메인 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄 및 b) V_H 항체 도메인 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인은 C_H1 항체 도메인의 아미노-말단에 V_L 항체 도메인을 포함하고/거나 제2 항원-결합 도메인은 C_L 항체 도메인의 아미노 말단에 V_H 항체 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_H 항체 도메인과 C_L 항체 도메인 사이의 펩티드 링커 및/또는 V_L 항체 도메인과 C_H1 항체 도메인 사이의 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 모든 V_L 항체 도메인 및 V_H 항체 도메인 CDR이 동일한 항체 모이어티로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인 및 V_H 항체 도메인은 1개를 초과하는 항체 모이어티로부터 유래된 항체 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인은 V_H 항체 도메인으로부터 유래된 항체 CDR을 포함하고/거나, V_H 항체 도메인은 V_L 항체 도메인으로부터 유래된 항체 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인은 하나의 항체로부터 유래된 프레임워크 영역 및 또 다른 항체로부터 유래된 하나 이상의 CDR을 포함하고/거나, V_H 항체 도메인은 하나의 항체로부터 유래된 프레임워크 영역 및 또 다른 항체로부터 유래된 하나 이상의 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 항원-결합 도메인은 디술피드 결합에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 항원-결합 도메인은 C_H1 도메인 내의 잔기와 C_L 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 IgG (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4), IgA (예를 들어, IgA1 또는 IgA2), IgD, IgM, 또는 IgE 중쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 서열식별번호: 39 및 60-69 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 카파 또는 람다 경쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, C_H1 및/또는 C_L 도메인은 서로에 대한 결합 친화력을 실질적으로 변경시키지 않는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, C_H1 및/또는 C_L 도메인은 서로에 대한 결합 친화력을 증가시키고/거나 비-천연 발생 디술피드 결합을 도입하는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, C_H1 및 C_L 도메인은 놉-인투-홀 변형을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Carter P. *J Immunol Methods*. 248:7-15, 2001] 참조). 일부 실시양태에서, C_H1 및 C_L 도메인은 서로와의 회합을 강화하도록 정전기 조종에 의해 변형된다 (예를 들어,

WO2006106905 및 문헌 [Gunasekaran K, *et al. J Biol Chem*. 285:19637-46, 2010] 참조). 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다.

[0098] 일부 실시양태에서, abTCR은 a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄 및 b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 Fv-유사 항원-결합 모듈을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인의 C-말단에 융합된 제1 펩티드 링커 및/또는 V_H 항체 도메인의 C-말단에 융합된 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 펩티드 링커는 서로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 이뮤노글로불린 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 CH3 항체 도메인 또는 그의 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드 링커 내에 함유된 이뮤노글로불린 중쇄 불변 도메인 (예를 들어, C_H1 또는 CH3)은 IgG (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4), IgA (예를 들어, IgA1 또는 IgA2), IgD, IgM, 또는 IgE 중쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 TCR 서브유닛 불변 영역으로부터 유래된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 a) TCR α 및 β 서브유닛 불변 도메인; 또는 b) TCR γ 및 δ 서브유닛 불변 도메인으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 합성이다. 일부 실시양태에서, 모든 V_L 항체 도메인 및 V_H 항체 도메인 CDR은 동일한 항체 모이어티로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인 및 V_H 항체 도메인은 1개를 초과하는 항체 모이어티로부터 유래된 항체 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인은 V_H 항체 도메인으로부터 유래된 항체 CDR을 포함하고/거나, V_H 항체 도메인은 V_L 항체 도메인으로부터 유래된 항체 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인은 하나의 항체로부터 유래된 프레임워크 영역 및 또 다른 항체로부터 유래된 하나 이상의 CDR을 포함하고/거나, V_H 항체 도메인은 하나의 항체로부터 유래된 프레임워크 영역 및 또 다른 항체로부터 유래된 하나 이상의 CDR을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 항원-결합 도메인은 디술피드 결합에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 펩티드 링커는 디술피드 결합에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 서로에 대한 결합 친화력을 실질적으로 변경시키지 않는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 서로에 대한 결합 친화력을 증가시키고/거나 비-천연 발생 디술피드 결합을 도입하는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 펩티드 링커는 놉-인투-홀 변형을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Carter P. *J Immunol Methods*. 248:7-15, 2001] 참조). 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 펩티드 링커는 서로와의 회합을 강화하도록 정전기 조종에 의해 변형된다 (예를 들어, WO2006106905 및 문헌 [Gunasekaran K, *et al. J Biol Chem*. 285:19637-46, 2010] 참조). 일부 실시양태에서, Fv-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다.

[0099] 일부 실시양태에서, 항체 모이어티 (예를 들어, Fab-유사 항원-결합 모듈 또는 Fv-유사 항원-결합 모듈)는 완전히 인간형인 서열 및 하나 이상의 합성 영역을 포함하는 반-합성 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 항체 모이어티는 완전히 인간형인 V_L, 및 완전히 인간형인 FR1, HC-CDR1, FR2, HC-CDR2, FR3 및 FR4 영역 및 합성 HC-CDR3을 포함하는 반-합성 V_H를 포함하는 반-합성 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 반-합성 V_H는 아미노산 약 5 내지 약 25개 (예컨대 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 중 임의의 것)의 길이의 서열을 갖는 완전 합성 HC-CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, 반-합성 V_H 또는 합성 HC-CDR3은 아미노산 약 5 내지 약 25개 (예컨대 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 중 임의의 것)의 길이의 서열을 갖는 완전 합성 HC-CDR3 영역을 포함하는 반-합성 라이브러리 (예컨대 반-합성 인간 라이브러리)로부터 수득되고, 여기서 서열 내의 각각의 아미노산은 시스테인을 뺀 표준 인간 아미노산으로부터 무작위로 선택된다. 일부 실시양태에서, 합성 HC-CDR3은 아미노산 약 10 내지 약 19개 (예컨대 약 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 또는 19개 중 임의의 것)의 길이이다. 일부 실시양태에서, 항체 모이어티는 반-합성 V_L 및 반-합성 V_H를 포함하는 반-합성 모이어티이다. 일부 실시양태에서, 항체 모이어티는 고정된 인간 V_H/V_L 프레임워크 쌍이 있지만, 중쇄 및 경쇄 둘 다의 6개의 CDR

모두에 대해 무작위화된 합성 서열이 있는 항체를 포함하는, 완전-합성 모이어티이다.

[0100] 일부 실시양태에서의 항체 모이어티 (예를 들어, Fab-유사 항원-결합 모듈 또는 Fv-유사 항원-결합 모듈)는 하나 이상의 항체 모이어티 (예컨대 모노클로날 항체)로부터 유래된 특이적 CDR 서열, 또는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 이러한 서열의 특정 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 변이체 서열 내의 아미노산 치환은 항체 모이어티가 표적 항원에 결합하는 능력을 실질적으로 감소시키지 않는다. 표적 항원 결합 친화력을 실질적으로 개선시키거나 또는 일부 다른 성질, 예컨대 표적 항원의 관련 변이체와의 교차-반응성 및/또는 특이성에 영향을 미치는 변경이 또한 구상된다.

[0101] TCRM은 a) 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 T 세포 수용체 도메인 (TCRD)을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄 및 b) 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 막횡단 도메인은 제1 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하고/거나, 제2 막횡단 도메인은 제2 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄 (예를 들어, 진뱅크 등록 번호: CCI73895)이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄 (예를 들어, 진뱅크 등록 번호: CCI73893)이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR γ 쇄 (예를 들어, 진뱅크 등록 번호: AGE91788)이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄 (예를 들어, 진뱅크 등록 번호: AAQ57272)이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR γ 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 막횡단 도메인은, 개별적으로, 서열식별번호: 77-80의 아미노산 서열 중 하나에 함유된 막횡단 도메인을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 막횡단 도메인은, 개별적으로, 서열식별번호: 1-4의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 막횡단 도메인의 아미노-말단에 제1 연결 펩티드를 추가로 포함하고/거나, 제2 TCRD는 막횡단 도메인의 아미노-말단에 제2 연결 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 연결 펩티드는 제1 TCR 서브유닛의 연결 펩티드 전체 또는 그의 일부분을 포함하고/거나 제2 연결 펩티드는 제2 TCR 서브유닛의 연결 펩티드 전체 또는 그의 일부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 막횡단 도메인 및 제1 연결 펩티드는 상이한 TCR 서브유닛으로부터 유래되고/거나 제2 막횡단 도메인 및 제2 연결 펩티드는 상이한 TCR 서브유닛으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 연결 펩티드는, 개별적으로, 서열식별번호: 77-80의 아미노산 서열 중 하나에 함유된 연결 펩티드 또는 그의 단편을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 연결 펩티드는, 개별적으로, 서열식별번호: 5-12의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 막횡단 도메인의 카르복시-말단에 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 막횡단 도메인의 카르복시-말단에 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 제1 TCR 서브유닛의 세포내 도메인 전체 또는 그의 일부분을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 제2 TCR 서브유닛의 세포내 도메인 전체 또는 그의 일부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 TCR 세포내 도메인은, 개별적으로, 서열식별번호: 77-80의 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세포내 도메인 전체 또는 그의 일부분을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 TCR 세포내 도메인은, 개별적으로, 서열식별번호: 13-14의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 단편이고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 쇄의 단편이다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 TCRD는 디술피드 결합에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 TCRD는 제1 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 팔량체성 abTCR-CD3 복합체을 형성하도록 각각의 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ를 동원할 수 있다 (즉, abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다).

[0102] 일부 실시양태에서, abTCR은 항체 모이어티 (예를 들어, Fab-유사 항원-결합 모듈 또는 Fv-유사 항원-결합 모듈)의 제1 폴리펩티드 쇄가 TCRM의 제1 폴리펩티드 쇄의 아미노-말단에 융합됨으로써 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 형성한 융합물, 및 항체 모이어티의 제2 폴리펩티드 쇄가 TCRM의 제2 폴리펩티드 쇄의 아미노-말단에 융합됨으로써 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 형성한 융합물을 포함하는 분자이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 항체 모이어티의 제1 폴리펩티드 쇄와 TCRM의 제1 폴리펩티드 쇄 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 항체 모이어티의 제2 폴리펩티드 쇄와 TCRM의 제2 폴리펩티드 쇄 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 아미노산 약 5 내지 약 70개 (예컨대 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 또는 70개 중 임의의 것이고, 이러한 값들 사이의 임의의 범위를 포함함)의 길이이다. 일

부 실시양태에서, abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 막횡단 도메인의 카르복시-말단에 제1 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 막횡단 도메인의 카르복시-말단에 제2 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 액세서리 세포내 도메인은 TCR 공동자극성 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCR 공동자극성 도메인은 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열 전체 또는 그의 일부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 액세서리 세포내 도메인은 에피토프 태그를 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR의 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 이종이량체이다.

[0103] 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환에 걸린 세포에서 발현되는 질환-연관 항원이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체이다. 펩티드/MHC 복합체는, 예를 들어, 질환에 걸린 세포에서 발현되는 질환-연관 항원으로부터 유래되는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 표면-제시 복합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 일반적으로 전장 질환-연관 항원은 질환에 걸린 세포의 표면에서 발현되지 않는다 (예를 들어, 질환-연관 항원은 세포내 또는 분비 단백질이다). 일부 실시양태에서, 질환은 암이고, 질환-연관 항원은 암 세포에서 발현되는 종양-연관 항원이다. 일부 실시양태에서, 종양-연관 항원은 종양단백질이다. 일부 실시양태에서, 종양단백질은 원형-종양유전자에서의 돌연변이의 결과이고, 종양단백질은 이러한 돌연변이를 포함하는 네오에피토프를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 종양-연관 항원 (예를 들어, 네오에피토프를 포함하는 종양단백질)이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 일반적으로는 암 세포의 표면 상에서 발현되지 않는 종양-연관 항원 (예를 들어, 네오에피토프를 포함하는 종양단백질) (예를 들어, 세포내 또는 분비형 종양-연관 항원)으로부터 유래된 펩티드, 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체이다. 일부 실시양태에서, 질환은 바이러스성 감염이고, 질환-연관 항원은 감염된 세포에서 발현되는 바이러스-연관 항원이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 바이러스-연관 항원이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 일반적으로는 바이러스-감염 세포의 표면에서 발현되지 않는 바이러스-연관 항원 (예를 들어, 세포내 또는 분비형 바이러스-연관 항원)으로부터 유래된 펩티드, 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체이다. 일부 실시양태에서, abTCR 구축물은 약 0.1 pM 내지 약 500 nM 사이 (예컨대 약 0.1 pM, 1.0 pM, 10 pM, 50 pM, 100 pM, 500 pM, 1 nM, 10 nM, 50 nM, 100 nM, 또는 500 nM 중 임의의 것이고, 이러한 값들 사이의 임의의 범위를 포함함)의 K_d로 표적 항원에 결합한다.

[0104] 일부 실시양태에서, abTCR은 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티 (예를 들어, Fab-유사 항원-결합 모듈 또는 Fv-유사 항원-결합 모듈)를 포함하며, 여기서 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 전체 항원, 예를 들어, 세포 표면 항원에 대한 특이적 결합은 때때로 "비-MHC-제한 결합"으로 지칭된다.

[0105] 일부 실시양태에서, abTCR은 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티 (예를 들어, Fab-유사 항원-결합 모듈 또는 Fv-유사 항원-결합 모듈)를 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체에 대한 특이적 결합은 때때로 "MHC-제한 결합"으로 지칭된다.

[0106] 일부 실시양태에서, abTCR은 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 클래스 I 단백질을 포함하는 복합체에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티 (예를 들어, Fab-유사 항원-결합 모듈 또는 Fv-유사 항원-결합 모듈)를 포함하며, 여기서 MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, 또는 HLA-G이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-B이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-C이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A01, HLA-A02, HLA-A03, HLA-A09, HLA-A10, HLA-A11, HLA-A19, HLA-A23, HLA-A24, HLA-A25, HLA-A26, HLA-A28, HLA-A29, HLA-A30, HLA-A31, HLA-A32, HLA-A33, HLA-A34, HLA-A36, HLA-A43, HLA-A66, HLA-A68, HLA-A69, HLA-A74, 또는 HLA-A80이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A*02:01-555 중 어느 하나, 예컨대 HLA-A*02:01, HLA-A*02:02, HLA-A*02:03, HLA-

A*02:04, HLA-A*02:05, HLA-A*02:06, HLA-A*02:07, HLA-A*02:08, HLA-A*02:09, HLA-A*02:10, HLA-A*02:11, HLA-A*02:12, HLA-A*02:13, HLA-A*02:14, HLA-A*02:15, HLA-A*02:16, HLA-A*02:17, HLA-A*02:18, HLA-A*02:19, HLA-A*02:20, HLA-A*02:21, HLA-A*02:22, 또는 HLA-A*02:24이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A*02:01이다.

[0107] 일부 실시양태에서, abTCR은 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 클래스 II 단백질을 포함하는 복합체에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티 (예를 들어, Fab-유사 항원-결합 모듈 또는 Fv-유사 항원-결합 모듈)를 포함하며, 여기서 MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DP, HLA-DQ, 또는 HLA-DR이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DP이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DQ이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DR이다.

[0108] 예를 들어, 일부 실시양태에서, a) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈, 및 b) 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 포함하는 abTCR (예컨대 단리된 abTCR)이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 V_H 항체 도메인, C_H1 항체 도메인, V_L 항체 도메인, 및 C_L 항체 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 IgG (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4) 중쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 카파 또는 람다 경쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR, 예컨대 αβTCR 또는 γδTCR의 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR, 예컨대 αβTCR 또는 γδTCR의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인 및 연결 펩티드는 αβTCR 또는 γδTCR로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인은 αβTCR로부터 유래되고 연결 펩티드는 γδTCR로부터 유래되거나, 또는 막횡단 도메인은 γδTCR로부터 유래되고 연결 펩티드는 αβTCR로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 세포외 도메인의 적어도 하나의 부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하는 적어도 하나의 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR 서브유닛의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 적어도 하나의 디술피드 결합을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원 결합 모듈은 디술피드 결합을 포함하고/거나 TCRM은 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원 결합 모듈은 C_H1 도메인 내의 잔기와 C_L 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 포함하고/거나 TCRM은 제1 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈과 TCRM 사이에 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0109] 일부 실시양태에서, a) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fv-유사 항원-결합 모듈, 및 b) 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 포함하고, 표적 항원이 펩티드/MHC 복합체인 abTCR (예컨대 단리된

abTCR)이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fv-유사 항원-결합 모듈은 V_H 항체 도메인 및 V_L 항체 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인의 C-말단에 융합된 제1 펩티드 링커 및/또는 V_H 항체 도메인의 C-말단에 융합된 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 펩티드 링커는 서로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 이뮤노글로불린 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 TCR 서브유닛 불변 영역으로부터 유래된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 a) TCR α 및 β 서브유닛 불변 도메인; 또는 b) TCR γ 및 δ 서브유닛 불변 도메인으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 합성이다. 일부 실시양태에서, Fv-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR, 예컨대 αβTCR 또는 γδTCR의 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR, 예컨대 αβTCR 또는 γδTCR의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인 및 연결 펩티드는 αβTCR 또는 γδTCR로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인은 αβTCR로부터 유래되고 연결 펩티드는 γδTCR로부터 유래되거나, 또는 막횡단 도메인은 γδTCR로부터 유래되고 연결 펩티드는 αβTCR로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 세포외 도메인의 적어도 하나의 부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하는 적어도 하나의 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR 서브유닛의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 적어도 하나의 디술피드 결합을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 디술피드 결합을 포함하고/거나 TCRM은 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 제1 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 표적 항원 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0110] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR γ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR γ 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 제1 TCR 서브유닛의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 제2 TCR 서브유닛의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 단편이고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 쇄의 단편이다. 일부 실시양태에서, abTCR는 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또

는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 IgG (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4) 중쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, C_H1 도메인은 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 카파 또는 람다 경쇄, 임의적으로는 인간의 것으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, C_L 도메인은 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0111] 일부 실시양태에서, a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 제1 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 제2 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fv-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하고, 여기서 표적 항원은 펩티드/MHC 복합체인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fv-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR γ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR γ 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 제1 TCR 서브유닛의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 제2 TCR 서브유닛의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 단편이고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 쇄의 단편이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하

나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 이뮤노글로불린 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 TCR 서브유닛 불변 영역으로부터 유래된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 a) TCR α 및 β 서브유닛 불변 도메인; 또는 b) TCR γ 및 δ 서브유닛 불변 도메인으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 합성이다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 펩티드 링커 내의 잔기와 제2 펩티드 링커 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 서로에 대한 결합 친화력을 실질적으로 변경시키지 않는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 서로에 대한 결합 친화력을 증가시키고/거나 비-천연 발생 디술피드 결합을 도입하는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 항원 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0112] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 TCR α 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 TCR β 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR α 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR β 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR α 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR β 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 TCR α 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 TCR β 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5

이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0113] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 TCR β 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 TCR α 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR β 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR α 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR β 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR α 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 TCR β 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 TCR α 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0114] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 TCR γ 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 TCR δ 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR γ 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거

나 제2 TCRD는 TCR δ 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR γ 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR δ 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 TCR γ 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 TCR δ 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0115] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 TCR δ 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 TCR γ 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR δ 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR γ 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR δ 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR γ 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 TCR δ 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 TCR γ 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결

펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0116] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 1-4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 1-4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 제1 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 제2 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 연결 펩티드는 서열식별번호: 5-12 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 TCR 세포내 도메인은 서열식별번호: 13-14 중 어느 하나의 아미노 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0117] 일부 실시양태에서, a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 1-4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 1-4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fv-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하고, 여기서 표적 항원은 펩티드/MHC 복합체인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fv-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 제1 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 제2 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 연결 펩티드는 서열식별번호: 5-12 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 TCR 세포내 도메인은 서열식별번호: 13-14 중 어느 하나의 아미노 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 펩티드 링커는 서로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 이뮤노글로불린 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 TCR 서브유닛 불변 영역으로부터 유래된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 a) TCR α 및 β 서브유닛 불변 도메인; 또는 b) TCR γ 및 δ 서브유닛 불변 도메인으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 합성이다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 펩티드 링커 내의 잔기와 제2 펩티드 링커 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 서로에 대한 결합 친화력을 실질적으로 변경시키지 않는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 서로에 대한 결합 친화력을 증가시키고/거나 비-천연 발생 디술피드 결합을 도입하는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 항원 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0118] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단으로의 순서로, V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 서열식별번호: 5-12 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 연결 펩티드 및 서열식별번호: 1-4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 서열식별번호: 5-12 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 연결 펩티드 및 서열식별번호: 1-4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며; 여기서

제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 TCR 세포내 도메인은 서열식별번호: 13-14 중 어느 하나의 아미노 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, abTCR은 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0119] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단으로의 순서로, V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 서열식별번호: 5-12 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 연결 펩티드 및 서열식별번호: 1-4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 서열식별번호: 5-12 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 연결 펩티드 및 서열식별번호: 1-4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fv-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하고, 여기서 표적 항원은 펩티드/MHC 복합체인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fv-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 제1 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 제2 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 연결 펩티드는 서열식별번호: 5-12 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 TCR 세포내 도메인은 서열식별번호: 13-14 중 어느 하나의 아미노 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산

서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 펩티드 링커는 서로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 이뮤노글로불린 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 TCR 서브유닛 불변 영역으로부터 유래된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 a) TCR α 및 β 서브유닛 불변 도메인; 또는 b) TCR γ 및 δ 서브유닛 불변 도메인으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 합성이다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 펩티드 링커 내의 잔기와 제2 펩티드 링커 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 자신이 유래되는 서열에 비교하여 하나 이상의 변형 (예를 들어, 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실)을 포함하는 변이체이다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 서로에 대한 결합 친화력을 실질적으로 변경시키지 않는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 서로에 대한 결합 친화력을 증가시키고/거나 비-천연 발생 디술피드 결합을 도입하는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 표적 항원 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0120] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며; 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) Fab-유사 항원-결합 모듈 내의 C_H1 및 C_L 항체 도메인 내의 잔기들 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0121] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 17의

아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며; 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) Fab-유사 항원-결합 모듈 내의 C_H1 및 C_L 항체 도메인 내의 잔기들 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0122] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며; 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) Fab-유사 항원-결합 모듈 내의 C_H1 및 C_L 항체 도메인 내의 잔기들 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군

으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0123] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하며; 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) Fab-유사 항원-결합 모듈 내의 C_H1 및 C_L 항체 도메인 내의 잔기들 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다.

[0124] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0125] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에

제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0126] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0127] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0128] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0129] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0130] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

를 포함하는, AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0131] 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_H 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체, 및 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_L 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체를 포함하는 항원-결합 모듈을 포함하는, AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다.

[0132] 따라서, 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈의 V_H 항체 도메인이 서열식별번호: 38의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) 서열 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체로 교체되고, Fab-유사 항원-결합 모듈의 V_L 항체 도메인이 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) 서열 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체로 교체된, 임의의 상기 기술된 abTCR에 따른 AFP 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다.

[0133] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, CD19를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0134] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, CD19를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0135] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, CD19를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성

신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0136] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는, CD19를 특이적으로 인식하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다).

[0137] 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_H 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체, 및 서열식별번호: 46의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_L 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체를 포함하는 항원-결합 모듈을 포함하는, CD19를 특이적으로 인식하는 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR이 제공된다.

[0138] 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_H 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체, 및 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_L 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체를 포함하는 항원-결합 모듈을 포함하는, CD19를 특이적으로 인식하는 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR이 제공된다.

[0139] 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_H 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체, 및 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_L 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체를 포함하는 항원-결합 모듈을 포함하는, CD19를 특이적으로 인식하는 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR이 제공된다.

[0140] 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 59의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_H 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체, 및 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_L 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체를 포함하는 항원-결합 모듈을 포함하는, CD19를 특이적으로 인식하는 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR이 제공된다.

[0141] 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_H 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그의 변이체, 및 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 (일부 실시양태에서는 그로 이루어진) V_L 항체 도메인 또는 서열 동일성이 적어도 약 95% (예를 들어 적어도 약 96%, 97%, 98%, 또는 99% 중 임의의 것)인 그

의 변이체를 포함하는 항원-결합 모듈을 포함하는, NY-ESO-1 157-165 펩티드 및 MHC I 단백질을 포함하는 복합체를 특이적으로 인식하는 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR이 제공된다.

[0142] 일부 실시양태에서, 표적 항원에 결합하는 것에 대해 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 제2 항원-결합 모듈과 경쟁하는 제1 항원-결합 모듈을 포함하는 abTCR이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 모듈은 제2 항원-결합 모듈과 동일한 또는 실질적으로 동일한 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 모듈이 표적 항원에 결합하는 것은 제2 항원-결합 모듈이 표적 항원에 결합하는 것을 적어도 약 70%만큼 (예컨대 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 중 임의의 것만큼) 억제하거나, 또는 그 반대이다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 모듈 및 제2 항원-결합 모듈은 표적 항원에 결합하는 것에 대해 교차-경쟁하고, 즉 각각의 제1 및 제2 항원-결합 모듈은 표적 항원에 결합하는 것에 대해 서로 경쟁한다.

[0143] 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인이 V_L 및 C_H1 항체 도메인을 포함하고 제2 항원-결합 도메인이 V_H 및 C_L 항체 도메인을 포함하도록 V_L 및 V_H 도메인이 상호교환된, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR이 제공된다.

[0144] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR 및 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 신호전달 모듈을 포함하는 복합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 복합체는 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ 각각을 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, abTCR, CD3δε, CD3γε, 및 ζζ를 포함하는 복합체가 제공된다.

[0145] 여러 측면들이 하기의 다양한 섹션에서 추가로 상세하게 논의된다.

[0146] **핵산**

[0147] abTCR을 코딩하는 핵산 분자가 또한 구상된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따르면, abTCR을 코딩하는 핵산 (또는 핵산 세트)가 제공된다.

[0148] 본 발명은 본 발명의 핵산이 삽입된 벡터를 또한 제공한다.

[0149] 간략히 요약하면, abTCR을 코딩하는 핵산에 의한 abTCR의 발현이 핵산이 프로모터 (예를 들어, 림프구-특이적 프로모터) 및 3' 비번역 영역(UTR)을 예를 들어 포함하는 5' 및 3' 조절 요소에 작동가능하게 연결되도록 핵산을 적합한 발현 벡터 내로 삽입함으로써 달성될 수 있다. 벡터는 진핵생물 숙주 세포에서의 복제 및 통합에 적절할 수 있다. 전형적인 클로닝 및 발현 벡터는 전사 및 번역 종결인자, 개시 서열, 및 원하는 핵산 서열의 발현의 조절에 유용한 프로모터를 함유한다.

[0150] 본 발명의 핵산을, 표준 유전자 전달 프로토콜을 사용하여, 핵산 면역화 및 유전자 요법에 또한 사용할 수 있다. 유전자 전달 방법은 관련 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 전문이 본원에 참조로 포함된 미국 특허 번호 5,399,346, 5,580,859, 5,589,466을 참조한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 유전자 요법 벡터를 제공한다.

[0151] 핵산은 다수의 유형의 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 예를 들어, 핵산은 플라스미드, 파지미드, 파지 유도체, 동물 바이러스 및 코스미드를 포함하지만 이에 제한되지 않는 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 특히 흥미로운 벡터는 발현 벡터, 복제 벡터, 프로브 생성 벡터, 및 시퀀싱 벡터를 포함한다.

[0152] 추가로, 바이러스 벡터의 형태로 발현 벡터가 세포에 제공될 수 있다. 바이러스 벡터 기술은 관련 분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌 [Sambrook *et al.* (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)], 및 기타 바이러스학 및 분자생물학 교본에 기술되어 있다. 벡터로서 유용한 바이러스는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스 바이러스, 및 렌티바이러스를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일반적으로, 적절한 벡터는 적어도 하나의 생물에서 기능성인 복제 기원, 프로모터 서열, 편리한 제한 엔도뉴클레아제 부위, 및 하나 이상의 선택성 마커를 함유한다 (예를 들어, WO 01/96584; WO 01/29058; 및 미국 특허 번호 6,326,193 참조).

[0153] 다수의 바이러스 기반 시스템이 포유동물 세포 내로의 유전자 전달을 위해 개발된 바 있다. 예를 들어, 레트로바이러스는 유전자 전달 시스템을 위한 편리한 플랫폼을 제공한다. 관련 분야에 공지된 기술을 사용하여, 선택된 유전자를 벡터 내로 삽입하고 레트로바이러스 입자 내에 패키징할 수 있다. 그 후 재조합 바이러스를 단리하고, 생체내에서 또는 생체외에서 대상체의 세포에 전달할 수 있다. 다수의 레트로바이러스 시스템이 관련 분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다. 다수의 아데노바이러스 벡터가 관

련 분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 렌티바이러스 벡터가 사용된다. 레트로바이러스 예컨대 렌티바이러스로부터 유래된 벡터가 장기 유전자 전달을 달성하기 위한 적절한 도구인데, 이들이 트랜스진의 장기간의 적절한 통합 및 딸 세포에서의 증식을 허용하기 때문이다. 비-증식 세포, 예컨대 간세포에 형질도입될 수 있다는 점에서 렌티바이러스 벡터는 종양-레트로바이러스 예컨대 뮤린 백혈병 바이러스로부터 유래된 벡터에 비해 추가 장점이 있다. 이는 면역원성이 낮다는 추가 장점도 있다.

[0154] 추가적인 프로모터 요소, 예를 들어, 인핸서가 전사 개시 빈도를 조절한다. 전형적으로, 이는 시작 부위로부터 30-110 bp 상류의 영역에 위치하지만, 최근 다수의 프로모터가 시작 부위의 하류에도 기능성 요소를 함유하는 것으로 나타내어진 바 있다. 프로모터 요소들 사이의 간격은 종종 탄력적이어서, 요소들이 역전되거나 또는 서로에 대해 이동될 때 프로모터 기능이 보존된다. 티미딘 키나제 (tk) 프로모터에서, 활성이 하락하기 시작하기 전에 프로모터 요소들 사이의 간격이 50 bp 떨어질때까지 증가될 수 있다.

[0155] 적절한 프로모터의 한 예는 극초기 시토메갈로바이러스 (CMV) 프로모터 서열이다. 이러한 프로모터 서열은 여기에 작동가능하게 연결된 임의의 폴리뉴클레오티드 서열의 높은 수준 발현을 구동할 수 있는 강력한 구성적 프로모터 서열이다. 적절한 프로모터의 또 다른 예는 신장 성장 인자-1α (EF-1α)이다. 그러나, 원숭이 바이러스 40 (SV40) 초기 프로모터, 마우스 유방 종양 바이러스 (MMTV), 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 긴말단 반복부 (LTR) 프로모터, MoMuLV 프로모터, 조류 백혈병 바이러스 프로모터, 엡스타인-바르 바이러스 극초기 프로모터, 라우스 육종 바이러스 프로모터, 뿐만 아니라 액틴 프로모터, 미오신 프로모터, 헤모글로빈 프로모터, 및 크레아틴 키나제 프로모터와 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 인간 유전자 프로모터를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 구성적 프로모터 서열을 또한 사용할 수 있다.

[0156] 추가로, 본 발명은 구성적 프로모터의 사용에 제한되지 않아야 한다. 유도성 프로모터 또한 본 발명의 일부로서 구상된다. 유도성 프로모터를 사용하는 것은 발현을 원하는 경우에 작동적으로 연결된 폴리뉴클레오티드 서열의 발현을 켜지게 하거나 또는 발현을 원하지 않는 경우에 발현을 끌 수 있는 분자 스위치를 제공한다. 진핵생물 세포에서 사용하기 위한 예시적인 유도성 프로모터 시스템은 호르몬-조절 요소 (예를 들어, 문헌 [Mader, S. and White, J. H. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5603-5607] 참조), 합성 리간드-조절 요소 (예를 들어, 문헌 [Spencer, D. M. et al. (1993) Science 262: 1019-1024] 참조) 및 이온화 방사선-조절 요소 (예를 들어, 예를 들어, 문헌 [Manome, Y. et al. (1993) Biochemistry 32: 10607-10613]; [Datta, R. et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1014-10153] 참조)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 시험관내 또는 생체내 포유동물 시스템에서 사용하기 위한 추가의 예시적인 유도성 프로모터 시스템이 문헌 [Gingrich et al. (1998) Annual Rev. Neurosci 21:377-405]에 검토되어 있다.

[0157] 본 발명에서 사용하기 위한 예시적인 유도성 프로모터 시스템은 Tet 시스템이다. 이러한 시스템은 문헌 [Gossen et al. (1993)]에 기술된 Tet 시스템을 기초로 한다. 예시적인 실시양태에서, 관심 대상인 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 Tet 오퍼레이터 (TetO) 부위를 포함하는 프로모터의 제어 하에 있다. 불활성 상태에서는, Tet 억제인자 (TetR)가 TetO 부위에 결합하여 프로모터로부터의 전사를 억제할 것이다. 활성 상태에서는, 예를 들어, 유도제 예컨대 테트라사이클린 (Tc), 안히드로테트라사이클린, 독시사이클린 (Dox), 또는 그의 활성 유사체의 존재 하에서는, 유도제가 TetO로부터의 TetR 방출을 야기함으로써, 전사가 일어나게 허용한다. 독시사이클린은 화학명이 1-디메틸아미노-2,4a,5,7,12-펜타히드록시-11-메틸-4,6-디옥소-1,4a,11,11a,12,12a-헥사히드로테트라센-3-카르복사미드인 테트라사이클린 항생체 패밀리의 구성원이다.

[0158] 한 실시양태에서, TetR은 포유동물 세포, 예를 들어, 뮤린 또는 인간 세포에서의 발현에 대해 코돈-최적화된다. 대부분의 아미노산은 유전자 코드의 축중성으로 인해 하나 초과의 코돈에 의해 코딩되어, 이러한 핵산에 의해 코딩되는 아미노산 서열에서의 어떠한 변경도 없는 소정의 핵산의 뉴클레오티드 서열에서의 실질적인 변이를 허용한다. 그러나, 다수의 생물은 코돈 용법에서의 차이, 일명 "코돈 편향" (즉, 소정의 아미노산에 대해 특정한 코돈(들)을 사용하는 것에 대한 편향)을 나타낸다. 코돈 편향은 종종 특정한 코돈에 대한 우세한 tRNA 종이 존재하는 것과 상호관련되며, 이는 차례로 mRNA 번역의 효율을 증가시킨다. 따라서, 특정한 생물 (예를 들어, 진핵생물)로부터 유래된 코딩 서열이 상이한 생물 (예를 들어, 진핵생물)에서의 발현 개선을 위해 코돈 최적화를 통해 개조될 수 있다.

[0159] Tet 시스템의 다른 특정한 변이는 하기의 "Tet-오프" 및 "Tet-온" 시스템을 포함한다. Tet-오프 시스템에서는, Tc 또는 Dox의 존재 하에 전사가 불활성이다. 이러한 시스템에서, 헤르페스 심플렉스(Herpes simplex) 바이러스로부터의 VP16의 강력한 전사활성화 도메인에 융합된 TetR로 구성된 테트라사이클린-제어 트랜스활성화제 단백질 (tTA)이 테트라사이클린-반응성 프로모터 요소 (TRE)의 전사 제어 하에 있는 표적 핵산의 발현을

제어한다. TRE는 프로모터 (통상적으로, 인간 시토메갈로바이러스 (hCMV) 극초기 프로모터로부터 유래된 최소 프로모터 서열)에 융합된 TetO 서열 콘카타머로 구성된다. Tc 또는 Dox의 부재 하에서는, tTA가 TRE에 결합하고, 표적 유전자의 전사를 활성화한다. Tc 또는 Dox의 존재 하에서는, tTA가 TRE에 결합할 수 없고, 표적 유전자로부터의 발현이 불활성으로 유지된다.

[0160] 반대로, Tet-온 시스템에서는, 전사가 Tc 또는 Dox의 존재 하에 활성이다. Tet-온 시스템은 역전 테트라사이클린-제어 트랜스활성화제인 rtTA를 기초로 한다. tTA와 같이, rtTA는 TetR 억제인자 및 VP16 트랜스활성화 도메인으로 구성된 융합 단백질이다. 그러나, TetR DNA 결합 모이어티 내의 4개의 아미노산의 변화가 rtTA의 결합 특성을 변경시켜, 이는 Dox의 존재 하에 표적 트랜스진의 TRE 내의 tetO 서열만을 인식할 수 있다. 따라서, Tet-온 시스템에서는, TRE-조절 표적 유전자의 전사가 Dox의 존재 하에서만 rtTA에 의해 자극된다.

[0161] 또 다른 유도성 프로모터 시스템은 이. 콜라이(*E. coli*)로부터의 lac 억제인자 시스템이다. (문헌 [Brown et al., Cell 49:603-612 (1987)]을 참조한다). lac 억제인자 시스템은 lac 오퍼레이터 (lacO)를 포함하는 프로모터에 작동가능하게 연결된 관심 폴리뉴클레오티드의 전사를 조절함으로써 기능한다. lac 억제인자 (lacR)는 LacO에 결합하고, 따라서 관심 폴리뉴클레오티드의 전사를 방지한다. 적절한 유도제, 예를 들어, 이소프로필-β-D-티오갈락토피라노시드 (IPTG)에 의해 관심 폴리뉴클레오티드의 발현이 유도된다.

[0162] 폴리펩티드 또는 그의 일부분의 발현을 평가하기 위해, 세포 내로 도입될 발현 벡터는 바이러스 벡터를 통해 형질감염 또는 감염되도록 추진된 세포들의 집단으로부터 발현 세포를 확인 및 선택하는 것을 용이하게 하기 위해 선택성 마커 유전자 또는 리포터 유전자 또는 둘 다를 또한 함유할 수 있다. 다른 측면에서, 선택성 마커는 별개의 DNA 조각 상에 보유되어 공동-형질감염 절차에서 사용될 수 있다. 선택성 마커 및 리포터 유전자 둘 다에 숙주 세포에서의 발현을 가능하게 하도록 적합한 조절 서열이 플랭킹될 수 있다. 유용한 선택성 마커는, 예를 들어, 항생제-저항성 유전자, 예컨대 neo 등을 포함한다.

[0163] 잠재적으로 형질감염된 세포를 확인하고 조절 서열의 기능성을 평가하기 위해 리포터 유전자가 사용된다. 일반적으로, 리포터 유전자는 수용자 생물 또는 조직에 존재하거나 이에 의해 발현되지 않고, 약간의 쉽게 검출가능한 성질, 예를 들어, 효소 활성에 의해 폴리펩티드의 발현이 명시되는 폴리펩티드를 코딩하는 유전자이다. DNA가 수용자 세포 내로 도입된 후의 적절한 시간에 리포터 유전자의 발현을 검정한다. 적절한 리포터 유전자는 루시페라제, β-갈락토시다제, 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제, 분비형 알칼리성 포스파타제, 또는 녹색 형광 단백질 유전자를 코딩하는 유전자를 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Ui-Tel *et al.*, 2000 *FEBS Letters* 479: 79-82] 참조). 적절한 발현 시스템이 널리 공지되어 있고, 공지된 기술을 사용하여 제조될 수 있거나 또는 상업적으로 수득될 수 있다. 일반적으로, 리포터 유전자의 최고 수준의 발현을 나타내는 최소의 5' 플랭킹 영역이 있는 구축물이 프로모터로서 확인된다. 이러한 프로모터 영역이 리포터 유전자에 연결되어, 프로모터-구동 전사를 조정하는 능력에 대해 작용제를 평가하는데 사용될 수 있다.

[0164] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR을 코딩하는 핵산은 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 제1 벡터 상에 위치하고, 제2 핵산 서열은 제2 벡터 상에 위치한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 핵산 서열은 동일한 벡터 상에 위치한다. 벡터들은, 예를 들어, 포유동물 발현 벡터 및 바이러스 벡터 (예컨대 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스 바이러스, 및 렌티바이러스로부터 유래된 것들)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 제1 프로모터의 제어 하에 있고, 제2 핵산 서열은 제2 프로모터의 제어 하에 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 동일한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 상이한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 핵산 서열은 다중시스트론성 (예컨대 이중시스트론성) 벡터에서 단일 프로모터의 제어 하에 단일 전사체로서 발현된다. 예를 들어 문헌 [Kim, JH, *et al.*, *PLoS One* 6(4):e18556, 2011]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 제1, 제2, 및/또는 단일 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준과 대략적으로 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준의 적어도 약 2배 (예컨대 적어도 약 2, 3, 4, 5배 또는 그 초과 중 임의의 것)이다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준의 약 1/2배 이하 (예컨대 약 1/2, 1/3, 1/4, 1/5배 또는 그 미만의 배수 중 임의의 것 이하)이다. mRNA 또는 단백질 수준에서 발현을 결정할 수 있다. 노던 블롯팅, 정량적 RT-PCR, 마이크로어레이 분석 등을 포함하는 다양한 널리 공지된 방법을 사용하여 핵산으로부터 전사된 mRNA의 양을 측정함으로써 mRNA 발현 수준을 결정할 수 있다.

면역세포화학 염색, 효소-결합 면역흡착 검정법 (ELISA), 웨스턴 블롯 분석, 발광 검정법, 질량 분광법, 고성능 액체 크로마토그래피, 고압 액체 크로마토그래피-탠덤 질량 분광법 등을 포함하는 공지된 방법에 의해 단백질 발현 수준을 측정할 수 있다.

[0165] 따라서, 일부 실시양태에서, a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 핵산 서열은 제1 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터) 상에 위치하고 제1 프로모터에 작동가능하게 연결되고, 제2 핵산 서열은 제2 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터) 상에 위치하고 제2 프로모터에 작동가능하게 연결된 것인, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산이 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 동일한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 상이한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준과 대략적으로 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준의 적어도 약 2배 (예컨대 적어도 약 2, 3, 4, 5배 또는 그 초과 중 임의의 것)이다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준의 약 1/2배 이하 (예컨대 약 1/2, 1/3, 1/4, 1/5배 또는 그 미만의 배수 중 임의의 것 이하)이다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 벡터는 바이러스 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)이다.

[0166] 일부 실시양태에서, a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제1 프로모터; 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제2 프로모터를 포함하는, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 동일한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 상이한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준과 대략적으로 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준의 적어도 약 2배 (예컨대 적어도 약 2, 3, 4, 5배 또는 그 초과 중 임의의 것)이다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 숙주 세포 (예컨대 T 세포)에서의 발현 수준이 이러한 숙주 세포에서의 제2 핵산 서열의 발현 수준의 약 1/2배 이하 (예컨대 약 1/2, 1/3, 1/4, 1/5배 또는 그 미만의 배수 중 임의의 것 이하)이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)이다.

[0167] 일부 실시양태에서, a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 및 제2 핵산 서열은 단일 프로모터의 제어 하에 있는 것인, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결되고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결되고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)이다.

[0168] 유전자를 세포 내로 도입하고 발현시키는 방법이 관련 분야에 공지되어 있다. 발현 벡터의 정황에서, 벡터는 관련 분야 내의 임의의 방법에 의해 숙주 세포, 예를 들어, 포유동물, 박테리아, 효모, 또는 곤충 세포 내로 용이하게 도입될 수 있다. 예를 들어, 물리적, 화학적 또는 생물학적 수단에 의해 발현 벡터가 숙주 세포 내로 전달될 수 있다.

[0169] 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 물리적 방법은 인산칼슘 침전, 리포펙션, 입자 포격, 미세주입, 전기천공 등을 포함한다. 벡터 및/또는 외인성 핵산을 포함하는 세포를 생산하는 방법이 관련 분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook *et al.* (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 인산칼슘 형질감염에 의해 숙주 세포

내로의 폴리뉴클레오티드의 도입이 수행된다.

[0170] 관심 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 생물학적 방법은 DNA 및 RNA 벡터를 사용하는 것을 포함한다. 바이러스 벡터, 특히 레트로바이러스 벡터가 유전자를 포유동물 세포, 예를 들어, 인간 세포 내로 삽입하기 위한 가장 널리 사용되는 방법이 되었다. 다른 바이러스 벡터가 렌티바이러스, 폭스바이러스, 헤르페스 심플렉스 바이러스 1, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,350,674 및 5,585,362를 참조한다.

[0171] 관심 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 화학적 방법은 콜로이드성 분산 시스템, 예컨대 거대분자 복합체, 나노캡슐, 미세구체, 비드, 및 지질-기반 시스템 (수중유 에멀션, 미셀, 혼합 미셀 및 리포솜 포함)을 포함한다. 시험관내 및 생체내에서 전달 비히클로서 사용하기 위한 예시적인 콜로이드성 시스템은 리포솜 (예를 들어, 인공 막 소포)이다.

[0172] 비-바이러스성 전달 시스템이 사용되는 경우, 예시적인 전달 비히클은 리포솜이다. 지질 제형을 사용하는 것이 숙주 세포 내로의 핵산 도입 (시험관내, 생체외, 또는 생체내)에 구상된다. 또 다른 측면에서, 핵산이 지질과 회합될 수 있다. 지질과 회합된 핵산이 리포솜의 수성 내부에 캡슐화될 수 있거나, 리포솜의 지질 이중층 내에 산재될 수 있거나, 리포솜 및 올리고뉴클레오티드 둘 다와 회합된 연결 분자를 통해 리포솜에 부착될 수 있거나, 리포솜 내에 포획될 수 있거나, 리포솜과 복합체를 이룰 수 있거나, 지질을 함유하는 용액 내에 분산될 수 있거나, 지질과 혼합될 수 있거나, 지질과 조합될 수 있거나, 지질 내에 현탁액으로서 함유될 수 있거나, 미셀에 함유되거나 또는 미셀과 복합체를 이룰 수 있거나, 또는 다른 방식으로 지질과 회합될 수 있다. 지질, 지질/DNA 또는 지질/발현 벡터 회합 조성물은 용액 내의 임의의 특정한 구조로 제한되지 않는다. 예를 들어, 이들은 이중층 구조에, 미셀로서, 또는 "붕괴"된 구조로 존재할 수 있다. 또한 이들은 단순하게 용액 내에 산재될 수 있고, 가능하게는 크기 또는 형상이 균일하지 않은 응집체를 형성한다. 지질은 천연 발생 또는 합성 지질일 수 있는 지방성 물질이다. 예를 들어, 지질은 세포질에서 천연적으로 발생하는 지방 액적, 뿐만 아니라 장쇄 지방족 탄화수소 및 그의 유도체, 예컨대 지방산, 알콜, 아민, 아미노 알콜, 및 알데히드를 함유하는 화합물들의 클래스를 포함한다.

[0173] 외인성 핵산을 숙주 세포 내로 도입하는데 또는 다른 방식으로 세포를 본 발명의 억제제에 노출시키는데 사용되는 방법과 관계없이, 숙주 세포 내의 재조합 DNA 서열의 존재를 확증하기 위해, 다양한 검정법이 수행될 수 있다. 이러한 검정법은, 예를 들어, 관련 분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 "분자 생물학적" 검정법, 예컨대 서던 및 노던 블롯팅, RT-PCR 및 PCR; "생화학적" 검정법, 예컨대 특정한 펩티드의 존재 또는 부재를, 예를 들어, 면역학적 수단 (ELISA 및 웨스턴 블롯)에 의해 또는 본 발명의 범주 내에 속하는 작용제를 확인하기 위해 본원에 기술된 검정법에 의해, 검출하는 것을 포함한다.

[0174] **abTCR 이펙터 세포**

[0175] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR을 코딩하는 핵산을 포함하며, 여기서 abTCR은 핵산으로부터 발현되어 이펙터 세포 표면에 국재화된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 외인성으로 발현되고, 이펙터 세포와 조합된다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 TCR 서브유닛을 발현하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR δ 및 γ 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 T 세포는 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 내인성 TCR 서브유닛 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR γ 및 δ 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 유전자 발현을 파괴하도록 세포를 변형시키는 것은 RNA 간섭 (예를 들어, siRNA, shRNA, miRNA), 유전자 편집 (예를 들어, CRISPR- 또는 TALEN-기반 유전자 녹아웃) 등을 예를 들어 포함하는, 관련 분야에 공지된 임의의 이러한 기술을 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산을 포함하며, 여기서 abTCR은 핵산으로부터 발현되어 이펙터 세포 표면에 국재화되는 것인, 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR을 코딩하는 핵산은 abTCR의 제1 폴리펩티드

쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 제1 벡터 상에 위치하고, 제2 핵산 서열은 제2 벡터 상에 위치한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 핵산 서열은 동일한 벡터 상에 위치한다. 벡터는, 예를 들어, 포유동물 발현 벡터 및 바이러스 벡터 (예컨대 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스 바이러스, 및 렌티바이러스로부터 유래된 것들)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 벡터 중 하나 이상이 이펙터 세포의 숙주 게놈 내로 통합된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열은 제1 프로모터의 제어 하에 있고, 제2 핵산 서열은 제2 프로모터의 제어 하에 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 동일한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 상이한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 핵산은 단일 프로모터의 제어 하에 있다. 일부 실시양태에서, 제1, 제2, 및/또는 단일 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현과 거의 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 적어도 약 2배 (예컨대 적어도 약 2, 3, 4, 5배 또는 그 초과 중 임의의 것)이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 약 1/2배 이하 (예컨대 약 1/2, 1/3, 1/4, 1/5배 또는 그 미만의 배수 중 임의의 것 이하)이다. mRNA 또는 단백질 수준에서 발현을 결정할 수 있다. 노던 블롯팅, 정량적 RT-PCR, 마이크로어레이 분석 등을 포함하는 다양한 널리 공지된 방법을 사용하여 핵산으로부터 전사된 mRNA의 양을 측정함으로써 mRNA 발현 수준을 결정할 수 있다. 면역세포화학 염색, 효소-결합 면역흡착 검정법 (ELISA), 웨스턴 블롯 분석, 발광 검정법, 질량 분광법, 고성능 액체 크로마토그래피, 고압 액체 크로마토그래피-탠덤 질량 분광법 등을 포함하는 공지된 방법에 의해 단백질 발현 수준을 측정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0176] 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)이며, 여기서 abTCR 이펙터 세포는 a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제1 프로모터를 포함하는 제1 핵산 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제2 프로모터를 포함하는 제2 핵산을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산으로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산으로부터 발현되어 abTCR을 형성하며, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, 이펙터 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 동일한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 상이한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현과 거의 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 적어도 약 2배 (예컨대 적어도 약 2, 3, 4, 5배 또는 그 초과 중 임의의 것)이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 약 1/2배 이하 (예컨대 약 1/2, 1/3, 1/4, 1/5배 또는 그 미만의 배수 중 임의의 것 이하)이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 TCR 서브유닛을 발현하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR δ 및 γ 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 내인성 TCR 서브유닛 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR γ 및 δ 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 벡터는 이펙터 세포의 숙주 게놈 내로 통합된 바이러스 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)이다.

[0177] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)이며, 여기서 abTCR 이펙터 세포는 a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제1 프로모터를 포함하는 제1 벡터 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제2 프로모터를 포함하는 제2 벡터를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하며, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, 이펙터 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 동일한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 상이한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현과 거의 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의

발현의 적어도 약 2배 (예컨대 적어도 약 2, 3, 4, 5배 또는 그 초과 중 임의의 것)이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 약 1/2배 이하 (예컨대 약 1/2, 1/3, 1/4, 1/5배 또는 그 미만의 배수 중 임의의 것 이하)이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 TCR 서브유닛을 발현하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR δ 및 γ 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 내인성 TCR 서브유닛 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR γ 및 δ 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 벡터는 이펙터 세포의 숙주 게놈 내로 통합된 바이러스 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)이다.

[0178] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)이며, 여기서 abTCR 이펙터 세포는 a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제1 프로모터 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제2 프로모터를 포함하는 벡터를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하며, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, 이펙터 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 동일한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 상이한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현과 거의 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 적어도 약 2배 (예컨대 적어도 약 2, 3, 4, 5배 또는 그 초과 중 임의의 것)이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 약 1/2배 이하 (예컨대 약 1/2, 1/3, 1/4, 1/5배 또는 그 미만의 배수 중 임의의 것 이하)이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 TCR 서브유닛을 발현하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR δ 및 γ 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 내인성 TCR 서브유닛 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR γ 및 δ 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 벡터는 이펙터 세포의 숙주 게놈 내로 통합된 바이러스 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)이다.

[0179] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)이며, 여기서 abTCR 이펙터 세포는 a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제1 프로모터 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 제2 프로모터를 포함하는 숙주 게놈-통합 렌티바이러스 벡터를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하며, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, 이펙터 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 동일한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 프로모터는 상이한 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현과 거의 동일하다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 적어도 약 2배 (예컨대 적어도 약 2, 3, 4, 5배 또는 그 초과 중 임의의 것)이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄의 발현은 제2 폴리펩티드 쇄의 발현의 약 1/2배 이하 (예컨대 약 1/2, 1/3, 1/4, 1/5배 또는 그 미만의 배수 중 임의의 것 이하)이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 TCR 서브유닛을 발현하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR δ 및 γ 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유

래되는 내인성 TCR 서브유닛 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR γ 및 δ 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 내인성 TCR 쇄 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0180] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)이며, 여기서 abTCR 이펙터 세포는 a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하는 벡터를 포함하며, 여기서 제1 및 제2 핵산 서열은 단일 프로모터의 제어 하에 있고, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하며, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, 이펙터 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결되고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결되고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 TCR 서브유닛을 발현하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR δ 및 γ 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 내인성 TCR 서브유닛 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR γ 및 δ 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 벡터는 이펙터 세포의 숙주 게놈 내로 통합된 바이러스 벡터 (예컨대 렌티바이러스 벡터)이다.

[0181] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)이며, 여기서 abTCR 이펙터 세포는 a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하는 숙주 게놈-통합 렌티바이러스 벡터를 포함하며, 여기서 제1 및 제2 핵산 서열은 단일 프로모터의 제어 하에 있고, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하며, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, 이펙터 세포가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 TCR 서브유닛을 발현하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR δ 및 γ 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 abTCR의 TCRD가 유래되는 내인성 TCR 서브유닛 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록

변형된 αβ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR α 및 β 쇄로부터 유래된 서열을 포함하거나, 또는 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이고 도입된 abTCR의 TCRD는 TCR γ 및 δ 쇄로부터 유래된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0182] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, abTCR을 표면상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0183] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, abTCR을 표면상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일

부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0184] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, abTCR을 표면상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연

관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0185] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0186] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄

는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0187] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0188] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단

2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0189] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0190] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또

는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0191] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0192] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서

리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0193] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0194] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서

열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0195] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0196] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 핵산 서열로부터 발현되고 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 핵산 서열로부터 발현되어 abTCR을 형성하고, 여기서 abTCR은 이펙터 세포의 표면에 국재화되는 것인, abTCR을 표면 상에서 발현하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)가 제공된다. 일부 실시양태에서, 제1 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제1 핵산 서열의 3' 단부를 제2 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 제2 핵산 서열의 5' 단부에 작동가능하게 연결된 프로모터가 있고, 제2 핵산 서열의 3' 단부를 제1 핵산 서열의 5' 단부에 연결하는, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 및 자가-절단 2A 펩티드 (예컨대 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A)를 코딩하는 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 링커가 있으며, 여기서 제1 핵산 서열 및 제2 핵산 서열은 프로모터의 제어 하에 단일 RNA로서 전사된다. 일부 실시양태에서, 프로모터는 유도성이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0197] 본원에 기술된 일부 이러한 실시양태 중 임의의 것에서, 유사한 조건 하에 비교했을 때 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR의 항체 모이어티를 포함하는 CAR, 예를 들어, abTCR의 항체 가변 도메인을 포함하는 scFv를 포함하는 CAR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포)에 비교하여 키메라 수용체 내재화 비율이 더 낮다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 유사한 조건 하의 키메라 수용체 이펙터 세포의 표적 항원-의존적 자극 후에 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포에 비교하여 키메라 수용체 내재화 비율이 더 낮다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 abTCR의 표적 항원으로 자극하고 나서 약 90분 후에 abTCR 내재화가 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 또는 5% 중 임의의 것 (이러한 값들 사이의 임의의 범위를 포함함) 미만)이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 abTCR T 세포이다.

[0198] 본원에 기술된 일부 이러한 실시양태 중 임의의 것에서, 유사한 조건 하에 비교했을 때 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR의 항체 모이어티를 포함하는 CAR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포)에 비교하여 고갈 비율 및/또는 발생이 더 낮다. 관련 분야에 공지된 임의의 수단에 의해, 예컨대 PD-1, TIM-3 및 LAG-3을 비제한적으로 포함하는 고갈 마커의 발현 수준을 측정함으로써, 이펙터 세포 고갈을 결정할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 유사한 조건 하의 키메라 수용체 이펙터 세포의 표적 항원-의존적 자극 후에 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포에 비교하여 하나 이상의 고갈 마커 (예컨대 PD-1, TIM-3 또는 LAG-3)의 발현 수준이 더 낮다. 일부 실시양태에서, 유사한 조건 하의 키메라 수용체 이펙터 세포의 표적 항원-의존적 자극 후에 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포에 비교하여 하나 이상의 고갈 마커 (예컨대 PD-1, TIM-3 또는 LAG-3)에 대해 양성인 것의 발생률이 더 낮다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 abTCR의 표적 항원으로의 자극 후에 하나 이상의 고갈 마커 (예컨대 PD-1, TIM-3 또는 LAG-3)에 대해 양성인 것에 대한 발생률이 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 1% 중 임의의 것 (이러한 값들 사이의 임의의 범위를 포함함) 미만)이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 abTCR T 세포이다. 관련 분야에 공지된 임의의 수단에 의해, 예를 들어, 키메라 수용체 이펙터 세포들의 집단 내의 고갈 마커에 대해 양성인 키메라 수용체 이펙터 세포의 백분율을 정량화함으로써 발생률을 계산할 수 있고, 여기서 고갈 마커에 대해 양성인 세포의 백분율이 발생률이다.

[0199] 본원에 기술된 일부 이러한 실시양태 중 임의의 것에서, 유사한 조건 하에 비교했을 때 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR의 항체 모이어티를 포함하는 CAR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포)에 비교하여 최종 분화의 비율 및/또는 발생이 더 낮다. 관련 분야에 공지된 임의의 수단에 의해, 예컨대 CD28, CCR7 및 그랜자임 B를 비제한적으로 포함하는 분화 마커의 발현 수준을 측정함으로써, 최종 분화를 결정할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 유사한 조건 하에 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포에 비교하여 하나 이상의 최종 분화 마커 (예컨대 그랜자임 B)의 발현 수준이 더 낮고/거나 하나 이상의 비-최종 분화 마커 (예컨대 CD28 또는 CCR7)의 발현이 더 크다. 일부 실시양태에서, 유사한 조건 하에 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포에 비교하여 하나 이상의 최종 분화 마커 (예컨대 그랜자임 B)에 대해 양성인 것의 발생률이 더 낮고/거나 하나 이상의 비-최종 분화 마커 (예컨대 CD28 또는 CCR7)에 대해 양성인 것의 발생률이 더 크다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 abTCR의 표적 항원으로의 자극 후에 하나 이상의 분화 마커 (예컨대 그랜자임 B)에 대해 양성인 것의 발생률이 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2, 1% 중 임의의 것 (이러한 값들 사이의 임의의 범위를 포함함) 미만)이고/거나 하나 이상의 비-최종 분화 마커 (예컨대 CD28 또는 CCR7)에 대해 양성인 것의 발생률이 약 10% 초과 (예컨대 약 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 또는 95% 중 임의의 것 (이러한 값들 사이의 임의의 범위를 포함함) 초과)이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 abTCR T 세포이다. 관련 분야에 공지된 임의의 수단에 의해, 예를 들어, 키메라 수용체 이펙터 세포들의 집단 내의 최종 분화 마커에 대해 양성인 키메라 수용체 이펙터 세포의 백분율을 정량화함으로써 발생률을 계산할 수 있고, 여기서 최종 분화 마커에 대해 양성인 세포의 백분율이 발생률이다.

[0200] 본원에 기술된 일부 이러한 실시양태 중 임의의 것에서, 유사한 조건 하에 비교했을 때 abTCR 이펙터 세포는 상응하는 CAR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR의 항체 모이어티를 포함하는 CAR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포)에 비교하여 증식 비율이 더 크다. 관련 분야에 공지된 임의의 수단에 의해, 예컨대 염료 희석을 측정함으로써 증식을 결정할 수 있다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 abTCR T 세포이다.

[0201] **abTCR 제조**

[0202] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따르면, 항체 모이어티는 모노클로날 항체로부터의 서열을 포함하는 Fab-유사 항원-결합 모듈이다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 모노클로날 항체

로부터의 V_H, C_H1, V_L, 및 C_L 도메인을 포함한다. 하이브리도마 방법, 예컨대 문헌 [Kohler and Milstein, *Nature*, 256:495 (1975)] 및 [Sergeeva *et al.*, *Blood*, 117(16):4262-4272]에 기술된 것을 사용하여 모노클로날 항체를 제조할 수 있다.

[0203] 하이브리도마 방법에서, 전형적으로 햄스터, 마우스, 또는 다른 적합한 숙주 동물을 면역화제로 면역화시켜 면역화제에 특이적으로 결합할 항체를 생산하거나 또는 생산할 수 있는 림프구를 유발한다. 대안적으로, 림프구를 시험관내에서 면역화시킬 수 있다. 면역화제는 관심 단백질의 폴리펩티드 또는 융합 단백질, 또는 적어도 2개의 분자를 포함하는 복합체, 예컨대 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간 기원의 세포를 원하는 경우 말초 혈액 림프구 ("PBL")가 사용되거나, 또는 비-인간 포유동물 공급원을 원하는 경우 지라 세포 또는 림프절 세포가 사용된다. 그 후, 적절한 융합제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 림프구를 불멸화 세포주와 융합시켜 하이브리도마 세포를 형성시킨다. 예를 들어, 문헌 [Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (New York: Academic Press, 1986), pp. 59-103]을 참조한다. 일반적으로 불멸화 세포주는 형질전환된 포유동물 세포, 특히 설치류, 소 및 인간 기원의 골수종 세포이다. 일반적으로, 래트 또는 마우스 골수종 세포주가 사용된다. 하이브리도마 세포를 적절한 배양 배지에서 배양할 수 있으며, 이는 바람직하게는 융합되지 않은 불멸화 세포의 성장 또는 생존을 억제하는 하나 이상의 물질을 함유한다. 예를 들어, 모 세포에 하이포크산틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HGPRT 또는 HPRT) 효소가 결여되면, 하이브리도마용 배양 배지는 전형적으로 하이포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘을 함유할 것이고 ("HAT 배지"), 이는 HGPRT-결핍 세포의 성장을 방지한다.

[0204] 일부 실시양태에서, 불멸화 세포주는 효율적으로 융합되고, 선택된 항체-생산 세포에 의한 항체의 안정적인 높은 수준 발현을 지지하며, 배지 예컨대 HAT 배지에 대해 민감성이다. 일부 실시양태에서, 불멸화 세포주는 뮤린 골수종 세포주이고, 예를 들어, 솔크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터(Salk Institute Cell Distribution Center) (캘리포니아주 샌디에고), 및 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(American Type Culture Collection) (버지니아주 마나사스)로부터 수득할 수 있다. 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주도 인간 모노클로날 항체의 생산에 대해 기술된 바 있다. 문헌 [Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984)]; [Brodeur *et al.* Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications (Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987) pp. 51-63].

[0205] 그 후, 하이브리도마 세포가 배양되는 배양 배지를 폴리펩티드에 대해 지시된 모노클로날 항체의 존재에 대해 검정할 수 있다. 하이브리도마 세포가 생산한 모노클로날 항체의 결합 특이성을 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 검정법, 예컨대 방사성 면역검정법 (RIA) 또는 효소-결합 면역흡착 검정법 (ELISA)에 의해 결정할 수 있다. 이러한 기술 및 검정법이 관련 분야에 공지되어 있다. 모노클로날 항체의 결합 친화력을, 예를 들어, 문헌 [Munson 및 Pollard, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)]의 스캐차드(Scatchard) 분석에 의해 결정할 수 있다.

[0206] 원하는 하이브리도마 세포를 확인한 후, 클론을 제한 희석 절차에 의해 서브클로닝하고 표준 방법에 의해 성장시킬 수 있다. [Goding, 상기 문헌]. 이러한 목적을 위한 적절한 배양 배지는, 예를 들어, 둘베코 변형 이글 배지 및 RPMI-1640 배지를 포함한다. 대안적으로, 하이브리도마 세포를 포유동물에서 복수로서 생체내에서 성장시킬 수 있다.

[0207] 서브클론이 분비한 모노클로날 항체를 통상적인 이뮤노글로불린 정제 절차, 예를 들어, 단백질 A-세파로스, 히드록시아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 또는 친화력 크로마토그래피에 의해 배양 배지 또는 복수액으로부터 단리 또는 정제할 수 있다.

[0208] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따르면, 항체 모이어티는 항체 모이어티 라이브러리(예컨대 scFv 또는 Fab 단편을 제시하는 파지 라이브러리)로부터 선택된 클론으로부터의 서열을 포함하는 Fab-유사 항원-결합 모듈이다. 원하는 활성 또는 활성들이 있는 항체 단편에 대해 조합형 라이브러리를 스크리닝함으로써 클론을 확인할 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리를 생성시키고 이러한 라이브러리를 원하는 결합 특성을 보유하는 항체에 대해 스크리닝하기 위한 다양한 방법이 관련 분야에 공지되어 있다. 이러한 방법이, 예를 들어, 문헌 [Hoogenboom *et al.*, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2001)]에 리뷰되어 있고, 예를 들어, 문헌 [McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554]; [Clackson *et al.*, *Nature* 352: 624-628 (1991)]; [Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992)]; [Marks and Bradbury, *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003)]; [Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004)]; [Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5):

1073-1093 (2004)]; [Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)]; 및 [Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)]에 추가로 기술되어 있다.

[0209] 특정 파지 디스플레이 방법에서, V_H 및 V_L 유전자의 레퍼토리가 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)에 의해 개별적으로 클로닝되고, 파지 라이브러리에서 무작위로 조합된 후, 이를 문헌 [Winter *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)]에 기술된 바와 같이 항원-결합 파지에 대해 스크리닝할 수 있다. 파지는 전형적으로 항체 단편을 단일쇄 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편으로서 디스플레이한다. 면역화된 공급원로부터의 라이브러리는 하이브리도마를 구축하는 것을 필요로 하지 않으면서 면역원에 대한 고-친화력 항체를 제공한다. 대안적으로, 문헌 [Griffiths *et al.*, *EMBO J*, 12: 725-734 (1993)]에 기술된 바와 같이 어떠한 면역화도 없이 광범위한 비-자가 항원, 그리고 또한 자가-항원에 대한 항체의 단일 공급원을 제공하도록 나이브 레퍼토리를 (예를 들어, 인간으로부터) 클로닝할 수 있다. 마지막으로, 문헌 [Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)]에 기술된 바와 같이, 줄기 세포로부터의 재배열되지 않은 V-유전자 분절을 클로닝하고, 고도로 가변성인 CDR3 영역을 코딩하고 시험관내에서의 재배열을 달성하는 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용함으로써 나이브 라이브러리를 합성에 의해 제조할 수도 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기술하는 특허 공보는, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,750,373, 및 미국 특허 공개 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360을 포함한다.

[0210] 파지 디스플레이를 사용하여 표적 항원 (예컨대 펩티드/MHC 클래스 I/II 복합체 또는 세포 표면 항원)에 대해 특이적인 항체에 대해 라이브러리를 스크리닝하여 Fab-유사 항원-결합 모듈을 제조할 수 있다. 라이브러리는 적어도 1×10^9개(예컨대 적어도 약 1×10^9, 2.5×10^9, 5×10^9, 7.5×10^9, 1×10^{10}, 2.5×10^{10}, 5×10^{10}, 7.5×10^{10}, 또는 1×10^{11}개 중 임의의 것)의 독특한 인간 항체 단편의 다양성이 있는 인간 scFv 파지 디스플레이 라이브러리일 수 있다. 일부 실시양태에서, 라이브러리는 모든 인간 중쇄 및 경쇄 서브패밀리를 포괄하는, 건강한 공여자로부터의 인간 PMBC 및 지라로부터 추출된 DNA로부터 구축된 나이브 인간 라이브러리이다. 일부 실시양태에서, 라이브러리는 다양한 질환에 걸린 환자, 예컨대 자가면역 질환에 걸린 환자, 암 환자, 및 감염성 질환에 걸린 환자로부터 단리된 PBMC로부터 추출된 DNA로부터 구축된 나이브 인간 라이브러리이다. 일부 실시양태에서, 라이브러리는 모든 아미노산 (시스테인 제외)이 임의의 소정의 위치에서 균등하게 존재할 수 있으면서 중쇄 CDR3이 완전히 무작위화되어 있는 반-합성 인간 라이브러리이다 (예를 들어, 문헌 [Hoet, R.M. *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 23(3):344-348, 2005] 참조). 일부 실시양태에서, 반-합성 인간 라이브러리의 중쇄 CDR3은 아미노산 약 5 내지 약 24개 (예컨대 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24개 중 임의의 것)의 길이이다. 일부 실시양태에서, 라이브러리는 완전-합성 파지 디스플레이 라이브러리이다. 일부 실시양태에서, 라이브러리는 비-인간 파지 디스플레이 라이브러리이다.

[0211] 고체 지지체 (예를 들어, 용액 패닝용 비드 또는 세포 패닝용 포유동물 세포)에 결합된 표적 항원에 대한 항체의 반복 결합 후에 결합되지 않은 파지를 제거하고 특이적으로 결합된 파지를 용출시킴으로써 표적 항원에 높은 친화력으로 결합하는 파지 클론을 선택할 수 있다. 용액 패닝의 예에서, 고체 지지체에 대한 고정을 위해 표적 항원이 비오틴화될 수 있다. 비오틴화 표적 항원을 파지 라이브러리 및 고체 지지체, 예컨대 스트렙타비딘-접합 다이나비즈(Dynabeads) M-280과 혼합한 후, 표적 항원-파지-비드 복합체를 단리한다. 그 후, 결합된 파지 클론을 용출시키고, 발현 및 정제를 위한 적합한 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이 XL1-블루를 감염시키는데 사용한다. 세포 패닝의 예에서, AFP 펩티드가 로딩된 T2 세포 (TAP-결핍, HLA-A*02:01$^+$ 림프모구 세포주)를 파지 라이브러리와 혼합한 후, 세포를 수집하고, 결합된 클론을 용출시켜, 발현 및 정제를 위한 적합한 숙주 세포를 감염시키는데 사용한다. 용액 패닝, 세포 패닝 또는 둘 다의 조합으로 다중 라운드 (예컨대 약 2, 3, 4, 5, 6회 또는 그 초과 중 임의의 것)로 패닝을 수행하여, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 파지 클론을 강화할 수 있다. ELISA 및 FACS를 예를 들어 포함하는, 관련 분야에 공지된 임의의 방법에 의해, 강화된 파지 클론을 표적 항원에 특이적으로 결합하는 것에 대해 테스트할 수 있다.

[0212] **인간 및 인간화 항체 모이어티**

[0213] abTCR 항체 모이어티는 인간 모이어티 또는 인간화 모이어티일 수 있다. 비-인간 (예를 들어, 뮤린) 항체 모이어티의 인간화 형태는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 전형적으로 함유하는 키메라 이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린 쇄, 또는 그의 단편 (예컨대 Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$, scFv, 또는 항체의 기타 항원-결합 서열)이다. 인간화 항체 모이어티는 수용자의 CDR로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화력 및 능력이 있는 비-인간 종 (공여자 항체) 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼로의 CDR로부터의 잔기로 교체된 인간

이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린 쇄, 또는 그의 단편 (수용자 항체)을 포함한다. 일부 예에서, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 잔기가 상응하는 비-인간 잔기로 교체된다. 인간화 항체 모이어티는 수용자 항체 모이어티 또는 수입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서 발견되지 않는 잔기를 또한 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체 모이어티는 가변 도메인 중 적어도 하나, 전형적으로는 2개를 실질적으로 모두 포함할 수 있고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 예를 들어, 문헌 [Jones *et al.*, *Nature,* 321: 522-525 (1986)]; [Riechmann *et al.*, *Nature,* 332: 323-329 (1988)]; [Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.,* 2:593-596 (1992)]을 참조한다.

[0214] 일반적으로, 인간화 항체 모이어티에는 비-인간인 공급원으로부터 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기가 있다. 이러한 비-인간 아미노산 잔기는 종종 "수입" 잔기로 지칭되며, 이는 전형적으로 "수입" 가변 도메인으로부터 취해진다. 일부 실시양태에 따르면, 본질적으로 인간화는 윈터(Winter) 및 동료의 방법 (Jones *et al.*, *Nature,* 321: 522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature,* 332: 323-327 (1988); Verhoeyen *et al.*, *Science,* 239: 1534-1536 (1988))에 따라, 설치류 CDR 또는 CDR 서열로 인간 항체 모이어티의 상응하는 서열을 치환함으로써 수행될 수 있다. 따라서, 이러한 "인간화" 항체 모이어티는 무손상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 적은 부분이 비-인간 종으로부터의 상응하는 서열로 치환되어 있는 항체 모이어티이다 (미국 특허 번호 4,816,567). 실제로, 전형적으로 인간화 항체 모이어티는 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기가 설치류 항체 내의 유사 부위로부터의 잔기로 치환된 인간 항체 모이어티이다.

[0215] 인간화에 대한 대안으로서, 인간 항체 모이어티가 생성될 수 있다. 예를 들어, 면역화 시 내인성 이뮤노글로불린 생산의 부재 하에 인간 항체의 전체 레퍼토리를 생산할 수 있는 트랜스제닉 동물 (예를 들어, 마우스)를 생산하는 것이 현재 가능하다. 예를 들어, 키메라 및 생식계열 돌연변이체 마우스에서의 항체 중쇄 연결 영역 (JH) 유전자의 동종접합 결실이 내인성 항체 생산의 완전한 억제를 초래한다는 것이 기술된 바 있다. 인간 생식계열 이뮤노글로불린 유전자 어레이를 이러한 생식계열 돌연변이체 마우스 내로 전달하는 것은 항원 챌린지 시 인간 항체의 생산을 초래할 것이다. 예를 들어, 문헌 [Jakobovits *et al.*, *PNAS USA,* 90:2551 (1993)]; [Jakobovits *et al.*, *Nature,* 362:255-258 (1993)]; [Bruggemann *et al.*, *Year in Immunol.,* 7:33 (1993)]; 미국 특허 번호 5,545,806, 5,569,825, 5,591,669; 5,545,807; 및 WO 97/17852를 참조한다. 대안적으로, 인간 이뮤노글로불린 유전자좌를 트랜스제닉 동물, 예를 들어, 내인성 이뮤노글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전히 불활성화되어 있는 마우스 내로 도입함으로써 인간 항체를 제조할 수 있다. 챌린지 시, 유전자 재배열, 어셈블리 및 항체 레퍼토리를 포함하여 모든 면에서 인간에서 보이는 것과 밀접하게 유사한 인간 항체 생산이 관찰된다. 이러한 접근법이, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016, 및 문헌 [Marks *et al.*, *Bio/Technology,* 10: 779-783 (1992)]; [Lonberg *et al.*, *Nature,* 368: 856-859 (1994)]; [Morrison, *Nature,* 368: 812-813 (1994)]; [Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnology,* 14: 845-851 (1996)]; [Neuberger, *Nature Biotechnology,* 14: 826 (1996)]; [Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.,* 13: 65-93 (1995)]에 기술되어 있다.

[0216] 인간 항체는 시험관내 활성화 B 세포에 의해 (미국 특허 5,567,610 및 5,229,275 참조) 또는 파지 디스플레이 라이브러리를 포함하는 관련 분야에 공지된 다양한 기술을 사용함으로써 또한 생성될 수 있다 (문헌 [Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.,* 227:381 (1991); [Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.,* 222:581 (1991)]). 문헌 [Cole *et al.*] 및 [Boerner *et al.*]의 기술 또한 인간 모노클로날 항체의 제조에 이용가능하다 (문헌 [Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,* Alan R. Liss, p. 77 (1985)] 및 [Boerner *et al.*, *J. Immunol.,* 147(1): 86-95 (1991)]).

[0217] **변이체**

[0218] 일부 실시양태에서, 본원에서 제공된 항체 모이어티의 아미노산 서열 변이체가 구상된다. 예를 들어, 항체 모이어티의 결합 친화력 및/또는 다른 생물학적 성질을 개선하는 것이 바람직할 수 있다. 항체 모이어티를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 내로 적합한 변형을 도입함으로써, 또는 펩티드 합성에 의해, 항체 모이어티의 아미노산 서열 변이체를 제조할 수 있다. 이러한 변형은, 예를 들어, 항체 모이어티의 아미노산 서열 내의 잔기로부터의 결실 및/또는 이러한 잔기 내로의 삽입 및/또는 이러한 잔기의 치환을 포함한다. 최종 구축물에 도달하도록 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 이루어질 수 있고, 단 최종 구축물은 원하는 특성, 예를 들어, 항원-결합을 보유한다.

[0219] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 아미노산 치환이 있는 항체 모이어티 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이유발

을 위한 관심 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 아미노산 치환을 관심 항체 모이어티 내로 도입하고, 생성물을 원하는 활성, 예를 들어, 유지/개선된 항원 결합 또는 감소된 면역원성에 대해 스크리닝할 수 있다.

[0220] 보존적 치환이 하기 표 1에서 제시된다.

[0221] **표 1: 보존적 치환**

원래 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0222]

[0223] 아미노산을 공통적인 측쇄 성질에 따라 상이한 클래스들로 분류할 수 있다:

[0224] a. 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0225] b. 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0226] c. 산성: Asp, Glu;

[0227] d. 염기성: His, Lys, Arg;

[0228] e. 쇄 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;

[0229] f. 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0230] 비-보존적 치환은 이러한 클래스 중 하나의 구성원을 또 다른 클래스로 교환하는 것을 수반할 것이다.

[0231] 예시적인 치환 변이체는 친화력 성숙 항체 모이어티이며, 이는 예를 들어 파지-디스플레이 기반 친화력 성숙 기술을 사용하여 편리하게 생성될 수 있다. 간략하게, 하나 이상의 CDR 잔기를 돌연변이시키고, 변이체 항체 모이어티를 파지 상에 디스플레이하여, 특정한 생물학적 활성 (예를 들어, 결합 친화력)에 대해 스크리닝한다. 변경 (예를 들어, 치환)이 HVR에서 이루어져서, 예를 들어, 항체 모이어티 친화력이 개선될 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟", 즉, 체세포 돌연변이 프로세스 동안 높은 빈도로 돌연변이가 진행되는 코돈이 코딩하는 잔기 (예를 들어, 문헌 [Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)] 참조), 및/또는 특이성 결정 잔기 (SDR)에서 이루어질 수 있고, 생성된 변이체 V_H 또는 V_L을 결합 친화력에 대해 테스트한다. 2차 라이브러리

를 구축하고 이로부터 재선택하는 것에 의한 친화력 성숙이, 예를 들어, 문헌 [Hoogenboom *et al.* in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))]에 기술된 바 있다.

[0232] 친화력 성숙의 일부 실시양태에서, 다양한 방법 (예를 들어, 오류-경향 PCR, 쇄 셔플링, 또는 올리고뉴클레오티드-지정 돌연변이유발) 중 임의의 것에 의해 성숙용으로 선택된 가변성 유전자 내로 다양성이 도입된다. 그 후, 2차 라이브러리가 생성된다. 그 후, 라이브러리를 스크리닝하여 원하는 친화력이 있는 임의의 항체 모이어티 변이체를 확인한다. 다양성을 도입하는 또 다른 방법은 여러 HVR 잔기 (예를 들어, 한 번에 4-6개의 잔기)가 무작위화되는 HVR-지정 접근법을 수반한다. 예를 들어, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 사용하여, 항원 결합에서 수반되는 HVR 잔기를 구체적으로 확인할 수 있다. 특히 CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.

[0233] 일부 실시양태에서, 치환, 결실 또는 삽입이 이러한 변경이 항체 모이어티가 항원에 결합하는 능력을 실질적으로 변경시키지 않는 한 하나 이상의 HVR 내에서 발생할수 있다. 예를 들어, 결합 친화력을 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경 (예를 들어, 본원에서 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟" 또는 SDR의 외부에 있을 수 있다. 상기에서 제공된 변이체 V_H 및 V_L 서열의 일부 실시양태에서, 각각의 HVR은 변경되지 않거나 또는 1개, 2개 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.

[0234] 돌연변이유발에 표적화될 수 있는 항체 모이어티의 잔기 또는 영역의 확인을 위한 유용한 방법이 문헌 [Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085]에 기술된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"로 칭해진다. 이러한 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기들의 군 (예를 들어, 하전된 잔기 예컨대 arg, asp, his, lys, 및 glu)을 확인하고, 중성 또는 음성으로 하전된 아미노산 (예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 교체하여, 항체 모이어티와 항원의 상호작용이 영향을 받는지 여부를 결정한다. 초기 치환에 대한 기능적 감수성을 입증하는 아미노산 위치에서 추가 치환이 도입될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 항원-항체 모이어티 복합체의 결정 구조를 결정하여 항체 모이어티와 항원 사이의 접촉 지점을 확인할 수 있다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃 잔기를 치환용 후보로서 표적화하거나 또는 제거할 수 있다. 변이체를 이들이 원하는 성질을 함유하는지 여부를 결정하기 위해 스크리닝할 수 있다.

[0235] 아미노산 서열 삽입은 길이가 잔기 1개에서 수백개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드까지의 범위에 이르는 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기가 있는 항체 모이어티를 포함한다. 항체 모이어티의 다른 삽입 변이체는 항체 모이어티의 N- 또는 C-말단이 효소 (예를 들어, ADEPT의 경우) 또는 항체 모이어티의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드에 융합되는 것을 포함한다.

[0236] **유도체**

[0237] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR는 관련 분야에 공지되어 있고 쉽게 입수가능한 추가적인 비-단백질 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. abTCR의 유도체화에 적절한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 수용성 중합체의 비제한적인 예는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 덱스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (단독중합체 또는 무작위 공중합체), 및 덱스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥시드/에틸렌 옥시드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올 (예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알콜, 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드가 물에서의 안정성으로 인해 제작 면에서의 장점을 지닐 수 있다. 중합체는 임의의 분자량의 것일 수 있고, 분지형 또는 비-분지형일 수 있다. abTCR에 부착된 중합체의 수는 다양할 수 있고, 1개를 초과하는 중합체가 부착된 경우, 이들은 동일하거나 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용된 중합체의 수 및/또는 유형은 개선될 abTCR의 특정한 성질 또는 기능, abTCR 유도체가 한정된 조건 하에 요법에서 사용될 것인지 여부 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 고려사항을 기초로 결정될 수 있다.

[0238] 일부 실시양태에서, abTCR 및 방사선 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 비-단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 일부 실시양태에서, 이러한 비-단백질성 모이어티는 탄소 나노튜브이다 (Kam *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은 임의의 파장의 것일 수 있고, 보통의 세포에를 해를 미치지 않지만 비-단백질성 모이어티를 abTCR-비-단백질성 모이어티에 근접한 세포가 사멸하는 온도로 가열하는

파장을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0239] **abTCR 이펙터 세포의 제조**

[0240] 본 발명은, 한 측면에서, abTCR을 발현하는 이펙터 세포 (예컨대 림프구, 예를 들어 T 세포)를 제공한다. abTCR을 발현하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포) (abTCR 이펙터 세포, 예컨대 abTCR T 세포)를 제조하는 예시적인 방법이 본원에서 제공된다.

[0241] 일부 실시양태에서, 표적 항원 (예컨대 질환-연관 항원)에 특이적으로 결합하는 abTCR (예컨대 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것)을 코딩하는 하나 이상의 핵산 (예를 들어 렌티바이러스 벡터를 포함함)을 이펙터 세포 내로 도입함으로써 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR T 세포)가 생성될 수 있다. 하나 이상의 핵산을 이펙터 세포 내로 도입하는 것은 관련 분야에 공지된 기술, 예컨대 본원에서 핵산에 대해 기술된 것을 사용하여 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR T 세포)는 생체내에서 복제될 수 있어, 장기적으로 지속되는 것을 초래하며, 이는 표적 항원의 발현과 연관된 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 지속적인 제어에 이를 수 있다.

[0242] 일부 실시양태에서, 본 발명은 암 또는 바이러스성 감염을 예를 들어 포함하는 표적 항원의 발현과 연관된 질환 및/또는 장애 (본원에서 "표적 항원-양성" 또는 "TA-양성" 질환 또는 장애로도 지칭됨)에 걸렸거나 또는 이러한 질환 및/또는 장애를 발생할 위험이 있는 환자의 치료를 위해 림프구 주입을 사용하여 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 유전자 변형된 T 세포를 투여하는 것에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 자가 림프구 주입이 치료에서 사용된다. 자가 PBMC를 치료를 필요로 하는 환자로부터 수집하고, 본원에 기술되어 있고 관련 분야에 공지된 방법을 사용하여 T 세포를 활성화 및 확장시킨 후, 환자 내로 다시 주입한다

[0243] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 T 세포 (본원에서 "abTCR T 세포"로도 지칭됨)가 제공된다. 본 발명의 abTCR T 세포는 강건한 생체내 T 세포 확장을 겪을 수 있고, 장기간 동안 혈액 및 골수에서 높은 수준으로 지속되는 표적 항원-특이적 기억 세포를 확립할 수 있다. 일부 실시양태에서, 환자 내로 주입된 본 발명의 abTCR T 세포는 표적 항원-연관 질환에 걸린 환자의 생체내에서 표적 항원-제시 세포, 예컨대 표적 항원-제시 암 또는 바이러스-감염 세포를 제거할 수 있다. 일부 실시양태에서, 환자 내로 주입된 본 발명의 abTCR T 세포는 적어도 하나의 통상적인 치료에 대해 불응성인 표적 항원-연관 질환에 걸린 환자의 생체내에서 표적 항원-제시 세포, 예컨대 표적 항원-제시 암 또는 바이러스-감염 세포를 제거할 수 있다.

[0244] T 세포의 확장 및 유전자 변형 전에, T 세포 공급원을 대상체로부터 수득한다. 말초 혈액 단핵 세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉막 삼출물, 비장 조작, 및 종양을 포함하는 다수의 공급원으로부터 T 세포를 수득할 수 있다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 관련 분야에서 입수가능한 임의의 수의 T 세포주를 사용할 수 있다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 통상의 기술자에게 공지된 임의의 수의 기술, 예컨대 피콜(Ficoll)™ 분리를 사용하여 대상체로부터 수집된 혈액 단위로부터 T 세포를 수득할 수 있다. 일부 실시양태에서, 개체의 순환 혈액으로부터의 세포를 성분채집술에 의해 수득한다. 전형적으로 성분채집술 생성물은 T 세포를 포함하는 림프구, 단핵구, 과립구, B 세포, 기타 유핵 백혈구, 적혈구, 및 혈소판을 함유한다. 일부 실시양태에서, 성분채집술로 수집된 세포를 세정하여, 혈장 분획을 제거하고, 세포를 후속 프로세싱 단계를 위한 적합한 완충제 또는 배지 내에 놓을 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포를 포스페이트 완충 염수 (PBS)로 세정한다. 일부 실시양태에서, 세정 용액은 칼슘이 결여되고, 마그네슘이 결여될 수 있거나 또는 전부는 아니더라도 다수의 2가 양이온이 결여될 수 있다. 관련 분야의 통상의 기술자가 쉽게 이해할 바와 같이, 세정 단계는 관련 분야의 기술자에게 공지된 방법에 의해, 예컨대 반자동 "관통형" 원심분리기 (예를 들어, 코브(Cobe) 2991 셀 프로세서, 박스터 사이토메이트(Baxter CytoMate), 또는 해모네틱스 셀 세이버(Haemonetics Cell Saver) 5)를 제조사의 지침서에 따라 사용함으로써 달성될 수 있다. 세정 후, 세포를 다양한 생체적합성 완충제, 예컨대 Ca^{2+}-무함유, Mg^{2+}-무함유 PBS, 플라즈마라이트(PlasmaLyte) A, 또는 완충제가 있는 또는 완충제가 없는 기타 염수 용액에 재현탁시킬 수 있다. 대안적으로, 성분채집술 샘플의 바람직하지 않은 성분을 제거하여 세포를 배양 배지에 직접적으로 재현탁시킬 수 있다.

[0245] 일부 실시양태에서, 적혈구를 용해시키고, 예를 들어, PERCOLL™ 구배를 통한 원심분리에 의해 또는 역류 원심분리 정화에 의해, 단핵구를 고갈시킴으로써 T 세포가 말초 혈액 림프구로부터 단리된다. T 세포의 특정 하위집단, 예컨대 $CD3^+$, $CD28^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$, 및 $CD45RO^+$ T 세포를 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 추가로

단리할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 원하는 T 세포의 양성 선택에 충분한 기간 동안 항-CD3/항-CD28 (즉, 3x28)-접합 비드, 예컨대 다이나비즈® M-450 CD3/CD28 T와 함께 인큐베이션함으로써 T 세포가 단리된다. 일부 실시양태에서, 기간은 약 30분이다. 일부 실시양태에서, 기간은 30분 내지 36시간 이상 (이러한 값들 사이의 모든 범위를 포함함)의 범위이다. 일부 실시양태에서, 기간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6시간이다. 일부 실시양태에서, 기간은 10 내지 24시간이다. 일부 실시양태에서, 인큐베이션 기간은 24시간이다. 백혈병 환자로부터의 T 세포 단리를 위해, 더 긴 인큐베이션 시간, 예컨대 24시간을 사용하는 것이 세포 수율을 증가시킬 수 있다. 다른 세포 유형에 비교하여 T 세포가 거의 없는 임의의 상황에서, 예컨대 종양 조직으로부터 또는 면역-손상 개체로부터 종양 침윤 림프구 (TIL)을 단리하는 것에서 T 세포를 단리하기 위해 더 긴 인큐베이션 시간이 사용될 수 있다. 추가로, 더 긴 인큐베이션 시간을 사용하는 것은 $CD8^+$ T 세포의 포획 효율을 증가시킬 수 있다. 따라서, 단순히 시간을 단축시키거나 또는 연장하는 것에 의해 T 세포가 CD3/CD28 비드에 결합하도록 허용되고/거나, 비드 대 T 세포의 비율을 증가시키거나 감소시키는 것에 의해 T 세포의 하위집단이 배양을 시작할 때 또는 프로세스 동안의 다른 시점에 우선적으로 선택될 수 있다. 추가적으로, 비드 또는 다른 표면 상의 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체의 비율을 증가시키거나 감소시킴으로써, T 세포의 하위집단이 배양을 시작할 때 또는 다른 원하는 시점에 우선적으로 선택될 수 있다. 통상의 기술자는 본 발명의 맥락에서 다중 선택 라운드를 또한 사용할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 일부 실시양태에서, 선택 절차를 수행하고 "선택되지 않은" 세포를 활성화 및 확장 프로세스에서 사용하는 것이 바람직할 수 있다. "선택되지 않은" 세포를 추가 선택 라운드에 또한 적용할 수 있다.

[0246] 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 강화를 음성적으로 선택된 세포에 독특한 표면 마커에 대해 지시된 항체의 조합으로 달성할 수 있다. 한 방법은 음성적으로 선택된 세포 상에 존재하는 세포 표면 마커에 대해 지시된 모노클로날 항체의 칵테일을 사용하는 음성 자기 면역흡착 또는 유동 세포측정법을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택에 의해 CD4+ 세포를 강화하기 위해, 모노클로날 항체 칵테일은 전형적으로 CD 14, CD20, CD11b, CD 16, HLA-DR, 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, $CD4^+$, $CD25^+$, CD62Lhi, $GITR^+$, 및 $FoxP3^+$를 전형적으로 발현하는 조절 T 세포를 강화하거나 양성으로 선택하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로, 일부 실시양태에서, 항-CD25 접합 비드 또는 다른 유사한 선택 방법에 의해 T 조절 세포가 고갈된다.

[0247] 양성 또는 음성 선택에 의한 원하는 세포 집단의 단리를 위해, 세포 및 표면 (예를 들어, 입자 예컨대 비드)의 농도가 다양할 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포 및 비드의 최대 접촉을 확실히 하기 위해 비드 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는 것 (즉, 세포 농도를 증가시키는 것)이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 약 20억개의 세포/ml의 농도가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 10억개의 세포/ml의 농도가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 1억개를 초과하는 세포/ml가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 10백만, 15백만, 20백만, 25백만, 30백만, 35백만, 40백만, 45백만, 또는 50백만개의 세포/ml 중 임의의 것의 세포 농도가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 75백만, 80백만, 85백만, 90백만, 95백만, 또는 100백만개의 세포/ml 중 임의의 것의 세포 농도가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 125백만 또는 약 150백만개의 세포/ml의 농도가 사용된다. 높은 농도를 사용하는 것은 증가된 세포 수율, 세포 활성화, 및 세포 확장을 초래할 수 있다. 추가로, 높은 세포 농도를 사용하는 것은 관심 표적 항원을 약하게 발현할 수 있는 세포, 예컨대 CD28- 음성 T 세포의 더욱 효율적인 포획 또는 다수의 종양 세포가 존재하는 샘플 (백혈병 혈액, 종양 조직 등)로부터의 더욱 효율적인 포획을 허용한다. 이러한 세포 집단은 치료적 가치가 있을 수 있고, 수득하는 것이 바람직할 것이다. 예를 들어, 높은 농도의 세포를 사용하는 것은 정상적으로는 CD28 발현이 더 약한 $CD8^+$ T 세포의 더욱 효율적인 선택을 허용한다.

[0248] 본 발명의 일부 실시양태에서, 치료 후에 직접적으로 환자로부터 T 세포가 수득된다. 이와 관련하여, 특정 암 치료, 특히 면역계를 손상시키는 약물로 치료한 뒤에, 치료 직후에 환자가 정상적으로 치료로부터 회복되고 있을 기간 동안에, 수득된 T 세포의 품질이 생체외에서 확장하는 능력에 대해 최적일 수 있거나 또는 개선될 수 있다는 것이 관찰된 바 있다. 유사하게, 본원에 기술된 방법을 사용하여 생체외에서 조작한 뒤에, 이러한 세포가 강화된 생착 및 생체내 확장을 위한 바람직한 상태일 수 있다. 따라서, T 세포, 수지상 세포, 또는 기타 조혈 계통 세포를 포함하는 혈액 세포를 이러한 회복기 동안 수집하는 것이 본 발명의 맥락 내에서 구상된다. 추가로, 일부 실시양태에서, 특히 요법 후의 한정된 시간 창 동안, 특정한 세포 유형의 재증식, 재순환, 재생 및/또는 확장이 선호되는 대상체 내의 상태를 생성시키기 위해 가동화 (예를 들어, GM-CSF로의 가동화) 및 컨디셔닝 체계를 사용할 수 있다. 예시적인 세포 유형은 T 세포, B 세포, 수지상 세포, 및 기타 면역계 세포를 포함

한다.

[0249] 바람직한 abTCR을 발현하기 위한 T 세포의 유전자 변형 전 또는 후의 여부와 관계 없이, 미국 특허 번호 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 6,867,041; 및 미국 특허 출원 공개 번호 20060121005에 예를 들어 기술된 바와 같은 방법을 일반적으로 사용하여 T 세포를 활성화 및 확장시킬 수 있다.

[0250] 일반적으로, T 세포 표면 상의 공동자극성 분자를 자극하는 리간드 및 CD3/TCR 복합체와 연관된 신호를 자극하는 작용제가 부착되어 있는 표면과의 접촉에 의해 본 발명의 T 세포가 확장된다. 특히, 예컨대 표면 상에 고정된 항-CD3 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 항-CD2 항체와의 접촉에 의해, 또는 칼슘 이온운반체와 함께 단백질 키나제 C 활성화제 (예를 들어, 브리오스타틴)와의 접촉에 의해 T 세포 집단이 자극될 수 있다. T 세포 표면 상의 액세서리 분자의 공동-자극을 위해, 액세서리 분자에 결합하는 리간드가 사용된다. 예를 들어, T 세포 집단이 T 세포 증식을 자극하는데 적절한 조건 하에 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉될 수 있다. $CD4^+$ T 세포 또는 $CD8^+$ T 세포의 증식을 자극하기 위해, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체. 항-CD28 항체의 예는 9.3, B-T3, XR-CD28 (디아클론(Diaclone), 프랑스 브장송)를 포함할 수 있고, 관련 분야에 통상적으로 공지된 다른 방법을 또한 사용할 수 있다 (Berg *et al.*, *Transplant Proc*. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen *et al.*, *J. Exp. Med*. 190(9):13191328, 1999; Garland *et al.*, *J. Immunol. Meth*. 227(1-2):53-63, 1999).

[0251] 본원에 기술된 임의의 이러한 실시양태 중 일부에서, abTCR 이펙터 세포의 제조는 abTCR 이펙터 세포의 고갈을 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제조는 abTCR 이펙터 세포의 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 또는 5% 중 임의의 것 미만)이 고갈되는 것을 초래한다. 본원에 기술된 임의의 수단을 포함하여 관련 분야에 공지된 임의의 수단으로 이펙터 세포 고갈을 결정할 수 있다.

[0252] 본원에 기술된 임의의 이러한 실시양태 중 일부에서, abTCR 이펙터 세포의 제조는 abTCR 이펙터 세포의 최종 분화를 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제조는 abTCR 이펙터 세포의 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 또는 5% 중 임의의 것 미만)이 최종적으로 분화되는 것을 초래한다. 본원에 기술된 임의의 수단을 포함하여 관련 분야에 공지된 임의의 수단으로 이펙터 세포 분화를 결정할 수 있다.

[0253] 본원에 기술된 임의의 이러한 실시양태 중 일부에서, abTCR 이펙터 세포의 제조는 abTCR 이펙터 세포 상의 abTCR의 내재화를 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제조는 abTCR 이펙터 세포 상의 abTCR의 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 또는 5% 중 임의의 것 미만)이 내재화되는 것을 초래한다. 본원에 기술된 임의의 수단을 포함하여 관련 분야에 공지된 임의의 수단으로 abTCR 이펙터 세포 상의 abTCR의 내재화를 결정할 수 있다.

[0254] **유전자 변형**

[0255] 일부 실시양태에서, 이펙터 세포 (예컨대 본원에 기술된 방법으로 제조된 T 세포)에 본원에 기술된 바와 같은 abTCR을 코딩하는 바이러스 벡터를 형질도입함으로써 본 발명의 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR T 세포)가 생성된다. 바이러스 벡터 전달 시스템은 이펙터 세포로의 전달 후에 에피솜 또는 통합 게놈이 있는 DNA 및 RNA 바이러스를 포함한다. 유전자 요법 절차의 리뷰를 위해, 문헌 [Anderson, Science 256:808-813 (1992)]; [Nabel & Feigner, TIBTECH 11 :211 - 217 (1993)]; [Mitani & Caskey, TIBTECH 11 :162-166 (1993)]; [Dillon, TIBTECH 11 : 167-175 (1993)]; [Miller, Nature 357:455-460 (1992)]; [Van Brunt, Biotechnology 6(10): 1149-1 154 (1988)]; [Vigne, Restorative Neurology and Neuroscience 8:35-36 (1995)]; [Kremer & Perricaudet, British Medical Bulletin 51(1):31-44 (1995)]; 및 [Yu et al., Gene Therapy 1 :13-26 (1994)]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터이고, abTCR 이펙터 세포는 abTCR 이펙터 세포 게놈 내로 통합된 렌티바이러스 벡터를 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 게놈 내로 통합된 렌티바이러스 벡터를 포하는 abTCR T 세포이다.

[0256] 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 내인성 TCR 쇄 중 하나 또는 둘 다의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 T 세포이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이거나, 또는 abTCR 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 유전자 발현을 파괴하는 세포 변형은 RNA

간섭 (예를 들어, siRNA, shRNA, miRNA), 유전자 편집 (예를 들어, CRISPR- 또는 TALEN-기반 유전자 녹아웃) 등을 예를 들어 포함하는 관련 분야에 공지된 임의의 이러한 기술을 포함한다.

[0257] 일부 실시양태에서, CRISPR/Cas 시스템을 사용하여 T 세포의 내인성 TCR 쇄 중 하나 또는 둘 다의 발현이 감소된 abTCR T 세포가 생성된다. 유전자 편집의 CRISPR/Cas 시스템의 리뷰를 위해, 예를 들어 문헌 [Jian W & Marraffini LA, *Annu. Rev. Microbiol.* 69, 2015]; [Hsu PD *et al.*, *Cell*, 157(6):1262-1278, 2014]; 및 [O'Connell MR *et al.*, *Nature* 516: 263-266, 2014]를 참조한다. 일부 실시양태에서, TALEN-기반 게놈 편집을 사용하여 T 세포의 내인성 TCR 쇄 중 하나 또는 둘 다의 발현이 감소된 abTCR T 세포가 생성된다.

[0258] **강화**

[0259] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 abTCR 이펙터 세포 중 임의의 것에 따른 abTCR 이펙터 세포에 대해 불균질 세포 집단을 강화하는 방법이 제공된다.

[0260] 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR T 세포)의 특정 하위집단을 양성 선택 기술에 의해 강화할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 원하는 abTCR 이펙터 세포의 양성 선택에 충분한 기간 동안 표적 항원-접합 비드와 함께 인큐베이션함으로써 abTCR 이펙터 세포 (예컨대 abTCR T 세포)가 강화된다. 일부 실시양태에서, 기간은 약 30분이다. 일부 실시양태에서, 기간은 30분 내지 36시간 이상 (이러한 값들 사이의 모든 범위를 포함함)의 범위이다. 일부 실시양태에서, 기간은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6시간이다. 일부 실시양태에서, 기간은 10 내지 24시간이다. 일부 실시양태에서, 인큐베이션 기간은 24시간이다. 불균질 세포 집단 내에 낮은 수준으로 존재하는 abTCR 이펙터 세포의 단리를 위해, 더 긴 인큐베이션 시간, 예컨대 24시간을 사용하는 것이 세포 수율을 증가시킬 수 있다. 다른 세포 유형에 비교하여 abTCR 이펙터 세포가 거의 없는 임의의 상황에서 abTCR 이펙터 세포를 단리하기 위해 더 긴 인큐베이션 시간이 사용될 수 있다. 통상의 기술자는 본 발명의 맥락에서 다중 선택 라운드를 또한 사용할 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0261] 양성 선택에 의한 원하는 abTCR 이펙터 세포 집단의 단리를 위해, 세포 및 표면 (예를 들어, 입자 예컨대 비드)의 농도가 다양할 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포 및 비드의 최대 접촉을 확실히 하기 위해 비드 및 세포가 함께 혼합되는 부피를 유의하게 감소시키는 것 (즉, 세포 농도를 증가시키는 것)이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 약 20억개의 세포/ml의 농도가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 10억개의 세포/ml의 농도가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 100백만개를 초과하는 세포/ml가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 10백만, 15백만, 20백만, 25백만, 30백만, 35백만, 40백만, 45백만, 또는 50백만개의 세포/ml 중 임의의 것의 세포 농도가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 75백만, 80백만, 85백만, 90백만, 95백만, 또는 100백만개의 세포/ml 중 임의의 것의 세포 농도가 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 125백만 또는 약 150백만개의 세포/ml의 농도가 사용된다. 높은 농도를 사용하는 것은 증가된 세포 수율, 세포 활성화, 및 세포 확장을 초래할 수 있다. 추가로, 높은 세포 농도를 사용하는 것은 abTCR을 약하게 발현할 수 있는 abTCR 이펙터 세포의 더욱 효율적인 포획을 허용한다.

[0262] 본원에 기술된 임의의 이러한 실시양태 중 일부에서, 강화는 abTCR 이펙터 세포의 고갈을 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 강화는 abTCR 이펙터 세포의 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 또는 5% 중 임의의 것 미만)이 고갈되는 것을 초래한다. 본원에 기술된 임의의 수단을 포함하여 관련 분야에 공지된 임의의 수단으로 이펙터 세포 고갈을 결정할 수 있다.

[0263] 본원에 기술된 임의의 이러한 실시양태 중 일부에서, 강화는 abTCR 이펙터 세포의 최종 분화를 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 강화는 abTCR 이펙터 세포의 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 또는 5% 중 임의의 것 미만)이 최종적으로 분화되는 것을 초래한다. 본원에 기술된 임의의 수단을 포함하여 관련 분야에 공지된 임의의 수단으로 이펙터 세포 분화를 결정할 수 있다.

[0264] 본원에 기술된 임의의 이러한 실시양태 중 일부에서, 강화는 abTCR 이펙터 세포 상의 abTCR의 내재화를 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 강화는 abTCR 이펙터 세포 상의 abTCR의 약 50% 미만 (예컨대 약 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 또는 5% 중 임의의 것 미만)이 내재화되는 것을 초래한다. 본원에 기술된 임의의 수단을 포함하여 관련 분야에 공지된 임의의 수단으로 abTCR 이펙터 세포 상의 abTCR의 내재화를 결정할 수 있다.

[0265] 본원에 기술된 임의의 이러한 실시양태 중 일부에서, 강화는 abTCR 이펙터 세포의 증식 증가를 초래한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 강화는 강화 후에 abTCR 이펙터 세포 수가 적어도 약 10% (예컨대 적어도 약 20, 30,

40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 1000% 또는 그 초과 중 임의의 것) 증가되는 것을 초래한다.

[0266] 따라서, 일부 실시양태에서, a) 불균질 세포 집단을 표적 항원 또는 그에 함유된 하나 이상의 에피토프를 포함하는 리간드와 접촉시켜 리간드에 결합된 abTCR 이펙터 세포를 포함하는 복합체를 형성시키는 단계; 및 b) 불균질 세포 집단으로부터 복합체를 분리함으로써, abTCR 이펙터 세포에 대해 강화된 세포 집단을 생성시키는 단계를 포함하는, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 abTCR 이펙터 세포에 대해 불균질 세포 집단을 강화하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 리간드는 고체 지지체 상에 고정된다. 일부 실시양태에서, 고체 지지체는 입상물질 (예컨대 비드)이다. 일부 실시양태에서, 고체 지지체는 표면 (예컨대 웰의 바닥)이다. 일부 실시양태에서, 리간드는 태그로 표지된다. 일부 실시양태에서, 태그는 형광 분자, 친화력 태그, 또는 자기 태그이다. 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 abTCR 이펙터 세포를 리간드로부터 용출시키고 용출물을 회수하는 것을 추가로 포함한다.

[0267] **라이브러리 스크리닝**

[0268] 표적 항원에 대해 특이적인 후보 abTCR 구축물을 단리하기 위해, abTCR 라이브러리, 예를 들어 복수의 abTCR을 코딩하는 핵산들의 라이브러리를 발현하는 세포를 표적 항원 또는 그에 함유된 하나 이상의 에피토프를 포함하는 리간드에 노출시킨 후, 리간드에 특이적으로 결합하는 라이브러리의 친화력 구성원을 단리할 수 있다. 일부 실시양태에서, 리간드는 고체 지지체에 고정된다. 일부 실시양태에서, 지지체는 비드, 미량역가 플레이트, 면역튜브, 또는 이러한 목적에 유용한 관련 분야에 공지된 임의의 물질의 표면일 수 있다. 일부 실시양태에서, 태그가 부착된 리간드 표적 (예를 들어, 비오틴화 리간드) 상에서 용액에서 상호작용이 일어난다. 일부 실시양태에서, 이러한 절차는 비특이적이고 비-반응성인 라이브러리 구성원을 제거하는 1회 이상의 세정 단계 (패닝)을 수반한다. 일부 실시양태에서, 용액 내의 복합체를 정제하기 위해, 고정에 의해 또는 원심분리에 의해 이를 포획한다. 일부 실시양태에서, 친화력 구성원이 가용성 비오틴화 리간드 상에 포획된 후, 친화력 복합체 (친화력 구성원 및 리간드)가 스트렙타비딘 비드 상에 고정된다. 일부 실시양태에서, 고체 지지체는 비드이다. 일부 실시양태에서, 비드는, 예를 들어, 자기 비드 (예를 들어, 방스 래버러토리즈(Bangs Laboratories), 폴리사이언시즈 인크.(Polysciences inc.), 다이날 바이오텍(Dynal Biotech), 밀테니이 바이오텍(Miltenyi Biotech) 또는 퀀텀 마그네틱(Quantum Magnetic)으로부터의 것), 비-자기 비드 (예를 들어, 피어스(Pierce) 및 업스테이트 테크놀로지(Upstate technology)), 단분산 비드 (예를 들어 다이날 바이오텍 및 마이크로파티클 게엠베하(Microparticle Gmbh)), 및 다분산 비드 (예를 들어 케마젠(Chemagen))를 포함한다. 자기 비드를 사용하는 것이 문헌에 철저하게 기술된 바 있다 (Uhlen, M, et al. (1994), Advances in Biomagnetic Separation, BioTechniques press, Westborough, MA). 일부 실시양태에서, 양성 선택에 의해 친화력 구성원이 정제된다. 일부 실시양태에서, 원치 않는 라이브러리 구성원을 제거하는 음성 선택에 의해 친화력 구성원이 정제된다. 일부 실시양태에서, 양성 및 음성 선택 단계 둘 다에 의해 친화력 구성원이 정제된다.

[0269] 일반적으로, 라이브러리 구축물을 제조하는데 사용되는 기술은 공지된 유전자 조작 기술을 기초로 할 것이다. 이와 관련하여, 사용될 발현 시스템의 유형에 적합한 발현 벡터 내로 라이브러리 내의 발현될 abTCR을 코딩하는 핵산 서열이 혼입된다. 세포, 예컨대 CD3+ 세포에서의 디스플레이에 사용하기 위한 적합한 발현 벡터가 관련 분야에 널리 공지 및 기술되어 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 발현 벡터는 바이러스 벡터, 예컨대 렌티바이러스 벡터이다.

[0270] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 어느 하나에 따른 복수의 abTCR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 일부 실시양태에서, 핵산 라이브러리는 복수의 abTCR을 코딩하는 바이러스 벡터를 포함한다. 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터이다.

[0271] 일부 실시양태에서, a) 복수의 세포의 표면 상에서 abTCR이 발현되도록, 복수의 세포 내로 핵산 라이브러리를 도입하는 단계; b) 복수의 세포를 표적 항원 또는 그에 함유된 하나 이상의 에피토프를 포함하는 리간드와 함께 인큐베이션하는 단계; c) 리간드에 결합된 세포를 수집하는 단계; 및 d) 단계 c)에서 수집된 세포로부터 abTCR을 코딩하는 서열을 단리함으로써, 표적 항원에 대해 특이적인 abTCR을 확인하는 단계를 포함하는, 표적 항원에 대해 특이적인 abTCR을 코딩하는 서열에 대해 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 핵산 라이브러리를 스크리닝하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 1회 이상의 세정 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 단계 b)와 c) 사이에 1회 이상의 세정 단계가 수행된다. 일부 실시양태에서, 복수의 세포는 복수의 CD3+ 세포이다. 일부 실시양태에서, 리간드는 고체 지지체 상에 고정된다. 일부 실시양태에서, 고체 지지체는 비드이다. 일부 실시양태에서, 리간드에 결합된 세포를 수집하는 단계는 세포를 고체 지지체에 결합된

리간드로부터 용출시키고 용출물을 수집하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 리간드는 태그로 표지된다. 일부 실시양태에서, 태그는 형광 분자, 친화력 태그, 또는 자기 태그이다. 일부 실시양태에서, 리간드에 결합된 세포를 수집하는 단계는 세포 및 표지된 리간드를 포함하는 복합체를 단리하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 복합체로부터 세포가 해리된다.

[0272] **MHC 단백질**

[0273] MHC 클래스 I 단백질은 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 분자의 2개의 주요 클래스 중 하나이고 (다른 하나는 MHC 클래스 II임), 신체의 거의 모든 유핵 세포 상에서 발견된다. 그의 기능은 세포 내로부터의 단백질의 단편을 T 세포에 디스플레이하는 것이다; 건강한 세포는 무시될 것인 한편, 외래 또는 돌연변이 단백질을 함유하는 세포는 면역계에 의해 공격될 것이다. MHC 클래스 I 단백질은 세포질액 단백질로부터 유래된 펩티드를 제시하기 때문에, MHC 클래스 I 제시의 경로는 종종 세포질액 또는 내인성 경로로 칭해진다. 클래스 I MHC 분자는 프로테아솜에 의한 세포질액 단백질의 분해로부터 주로 생성되는 펩티드에 결합한다. 그 후, MHC I:펩티드 복합체가 세포의 형질막 내로 삽입된다. 펩티드는 클래스 I MHC 분자의 세포외 부분에 결합된다. 따라서, 클래스 I MHC의 기능은 세포내 단백질을 세포독성 T 세포 (CTL)에 디스플레이하는 것이다. 그러나, 교차-제시로 공지된 프로세스에서, 클래스 I MHC는 외인성 단백질로부터 생성된 펩티드를 또한 제시할 수 있다.

[0274] MHC 클래스 I 단백질은 2개의 폴리펩티드 쇄인 α 및 β2-마이크로글로불린 (β2M)으로 이루어진다. 2개의 쇄는 β2M과 α3 도메인의 상호작용을 통해 비-공유결합으로 연결된다. α 쇄만이 다형성이고 HLA 유전자에 의해 코딩되는 한편, β2M 서브유닛은 다형성이 아니고 β-2 마이크로글로불린 유전자에 의해 코딩된다. α3 도메인은 형질 막에 스패닝되고, T-세포의 CD8 공동-수용체와 상호작용한다. α3-CD8 상호작용은 MHC I 분자를 적소에 유지시키는 한편, 세포독성 T 세포의 표면 상의 T 세포 수용체 (TCR)는 그의 α1-α2 이종이량체 리간드와 결합하고, 커플링된 펩티드를 항원성에 대해 점검한다. α1 및 α2 도메인은 펩티드가 결합할 홈을 구성하도록 폴딩된다. MHC 클래스 I 단백질은 아미노산 8-10개 길이의 펩티드에 결합한다.

[0275] MHC 클래스 II 분자는 정상적으로는 항원-제시 세포 예컨대 수지상 세포, 단핵 포식세포, 일부 내피 세포, 흉선 상피 세포 및 B 세포 상에서만 발견되는 분자들의 패밀리이다. 클래스 II 펩티드가 제시하는 펩티드는 세포외 단백질 (클래스 I에서처럼 세포질액이 아님)로부터 유래된다; 따라서, 항원 제시의 MHC 클래스 II-의존적 경로는 세포내이입 또는 외인성 경로로 칭해진다. MHC 클래스 II 분자의 로딩은 포식작용에 의해 발생한다; 세포외 단백질이 세포내이입되고, 리소좀에서 소화되고, 생성된 에피토프 펩티드 단편이 MHC 클래스 II 분자 상에 로딩된 후, 세포 표면으로 이동한다.

[0276] MHC 클래스 I 분자와 같이, 클래스 II 분자 또한 이종이량체이지만, 이러한 경우에는 2개의 상동성 펩티드인 α 및 β 쇄로 이루어진다. α1, α2 등의 하위지명은 HLA 유전자 내의 별개의 도메인들을 지칭한다; 각각의 도메인은 일반적으로 유전자 내의 상이한 엑손에 의해 코딩되고, 일부 유전자는 리더 서열, 막횡단 서열 등을 코딩하는 추가 도메인이 있다. MHC 클래스 II 분자의 항원-결합 홈은 양쪽 단부에서 개방되어 있는 한편 클래스 I 분자 상의 상응하는 홈은 각각의 단부에서 폐쇄되어 있기 때문에, MHC 클래스 II 분자가 제시하는 항원이 더 길고, 일반적으로 아미노산 잔기 15개 내지 24개의 길이이다.

[0277] 인간 백혈구 항원 (HLA) 유전자는 MHC 유전자의 인간 버전이다. 인간의 3개의 주요 MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A, HLA-B, 및 HLA-C인 한편, 3개의 소수 단백질은 HLA-E, HLA-F, 및 HLA-G이다. 인간에서의 항원 제시에서 수반되는 3개의 주요 MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DP, HLDA-DQ, 및 HLA-DR인 한편, 다른 MHC 클래스 II 단백질인 HLA-DM 및 HLA-DO는 항원의 내부 프로세싱 및 로딩에서 수반된다. HLA-A는 가장 빠르게 발전 중인 코딩 서열을 갖는 인간에서의 유전자 중에서 순위가 매겨진다. 2013년 12월 현재, 1740개의 활성 단백질 및 117개의 무효 단백질을 코딩하는 2432개의 HLA-A 대립유전자가 공지되어 있다. HLA-A 유전자는 6번 염색체의 짧은 팔 상에 위치하고, HLA-A의 구성성분인 더 큰 α-쇄를 코딩한다. HLA-A α-쇄의 변이가 HLA 기능의 핵심이다. 이러한 변이가 집단 내의 유전적 다양성을 촉진한다. 각각의 HLA는 특정 구조의 펩티드에 대한 친화력이 상이하기 때문에, HLA의 더 큰 다양성은 세포 표면 상에 '제시'될 항원의 더 큰 다양성을 의미하며, 이는 집단의 서브세트가 임의의 소정의 외래 침입자에 대해 저항성일 가능성을 강화한다. 이는 단일 병원체가 전체 인간 집단을 일소하는 능력을 가질 가능성을 감소시킨다. 각각의 개체는 이들의 부모 각각으로부터 하나씩 최대 2가지 유형의 HLA-A를 발현할 수 있다. 일부 개체는 양쪽 부모로부터 동일한 HLA-A를 상속받아서, 그의 개별적인 HLA 다양성을 감소시킬 것이다; 그러나, 대다수의 개체는 HLA-A의 2개의 상이한 카피를 수여받을 것이다. 이러한 패턴은 모든 HLA 군에 동일하게 적용된다. 달리 말하면, 사람은 2432개의 공지된 HLA-A 대립유전자 중 1개 또는 2개만을 발현할 수 있다.

[0278] 모든 대립유전자에 적어도 4개의 자릿수의 분류, 예를 들어, HLA-A*02:12가 제공된다. A는 대립유전자가 속하는 HLA 유전자를 의미한다. 다수의 HLA-A 유전자가 있어서, 혈청형에 의한 분류가 범주화를 단순하게 한다. 다음 자릿수 쌍이 이러한 할당을 가리킨다. 예를 들어, HLA-A*02:02, HLA-A*02:04, 및 HLA-A*02:324는 모두 A2 혈청형 (*02 접두사로 지정됨)의 구성원이다. 이러한 군은 HLA 적합성을 담당하는 1차 인자이다. 이후의 모든 번호는 혈청형결정에 의해 결정될 수 없고, 유전자 시퀀싱을 통해 지정된다. 두번째 자릿수 세트는 어떤 HLA 단백질이 생산되는지를 가리킨다. 이는 발견 순서로 할당되고, 2013년 12월 현재 456개의 상이한 HLA-A02 단백질이 공지되어 있다 (명칭 HLA-A*02:01 내지 HLA-A*02:456이 할당됨). 가장 짧은 가능한 HLA 명칭이 이러한 상세사항 둘 다를 포함한다. 이를 넘어서는 각각의 확장은 뉴클레오티드 변화를 의미하며, 이는 단백질을 변화시킬 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있다.

[0279] 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 클래스 I 단백질을 포함하는 복합체에 특이적으로 결합하고, 여기서 MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, 또는 HLA-G이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-B이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-C이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A01, HLA-A02, HLA-A03, HLA-A09, HLA-A10, HLA-A11, HLA-A19, HLA-A23, HLA-A24, HLA-A25, HLA-A26, HLA-A28, HLA-A29, HLA-A30, HLA-A31, HLA-A32, HLA-A33, HLA-A34, HLA-A36, HLA-A43, HLA-A66, HLA-A68, HLA-A69, HLA-A74, 또는 HLA-A80이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A*02:01-555 중 어느 하나, 예컨대 HLA-A*02:01, HLA-A*02:02, HLA-A*02:03, HLA-A*02:04, HLA-A*02:05, HLA-A*02:06, HLA-A*02:07, HLA-A*02:08, HLA-A*02:09, HLA-A*02:10, HLA-A*02:11, HLA-A*02:12, HLA-A*02:13, HLA-A*02:14, HLA-A*02:15, HLA-A*02:16, HLA-A*02:17, HLA-A*02:18, HLA-A*02:19, HLA-A*02:20, HLA-A*02:21, HLA-A*02:22, 또는 HLA-A*02:24이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A*02:01이다. HLA-A*02:01은 모든 백인종의 39-46%에서 발현되고, 따라서 본 발명에서 사용하기 위한 MHC 클래스 I 단백질의 적절한 선택을 나타낸다.

[0280] 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 클래스 II 단백질을 포함하는 복합체에 특이적으로 결합하고, 여기서 MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DP, HLA-DQ, 또는 HLA-DR이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DP이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DQ이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DR이다.

[0281] 관련 분야의 기술자에게 공지된 컴퓨터 예측 모델을 사용하여, 예를 들어, HLA (예컨대 HLA-A*02:01) 결합 모티프 및 프로테아솜 및 면역-프로테아솜에 대한 절단 부위의 존재를 기초로, Fab-유사 항원-결합 모듈을 생성시키는데 사용하기 위한 펩티드를 결정할 수 있다. MHC 결합 부위를 예측하기 위해, 이러한 모델은 ProPred1 (문헌 [Singh and Raghava, *ProPred: prediction of HLA-DR binding sites. BIOINFORMATICS* 17(12):1236-1237, 2001]에 더욱 상세하게 기술되어 있음), 및 SYFPEITHI (문헌 [Schuler *et al. SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction. Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, vol 409(1): 75-93, 2007] 참조)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0282] 적합한 펩티드가 확인되었으면, 관련 분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 프로토콜에 따라 펩티드를 합성할 수 있다. 비교적 작은 크기로 인해, 본 발명의 펩티드는 직접적으로 용액에서 또는 고체 지지체 상에서 통상적인 펩티드 합성 기술에 따라 합성될 수 있다. 다양한 자동 합성기가 시판되고, 공지된 프로토콜에 따라 사용될 수 있다. 용액 상에서의 펩티드 합성은 합성 펩티드의 대규모 생산을 위한 잘 확립된 절차가 되었고, 따라서 본 발명의 펩티드를 제조하기 위한 적절한 대안적인 방법이다 (예를 들어, 문헌 [Solid Phase Peptide Synthesis, John Morrow Stewart and Martin *et al. Application of Almez-mediated Amidation Reactions to Solution Phase Peptide Synthesis*, Tetrahedron Letters Vol. 39, pages 1517-1520, 1998]을 참조한다).

[0283] **제약 조성물**

[0284] 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산, 또는 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR 이펙터 세포를 포함하는 조성물 (예컨대 제약 조성물이고, 본원에서 제형으로도 지칭됨)이 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, 조성물은 본원에 기술된 abTCR 중 임의의 것에 따른 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포)를 포함하는 abTCR 이펙터 세포 조성물 (예컨대 제약 조성물)이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물은 제약 조성물이다.

[0285] 조성물은 동일한 세포 유형이고 동일한 abTCR을 발현하는 abTCR 이펙터 세포들을 포함하는 균질 세포 집단, 또는 상이한 세포 유형이고/거나 상이한 abTCR을 발현하는 abTCR 이펙터 세포들을 포함하는 복수의 abTCR 이펙터 세포 집단을 포함하는 불균질 세포 집단을 포함할 수 있다. 조성물은 abTCR 이펙터 세포가 아닌 세포를 추가로 포함할 수 있다.

[0286] 따라서, 일부 실시양태에서, 동일한 세포 유형이고 동일한 abTCR을 발현하는 abTCR 이펙터 세포들 (예컨대 abTCR T 세포들)의 균질 세포 집단을 포함하는 abTCR 이펙터 세포 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물은 제약 조성물이다.

[0287] 일부 실시양태에서, 상이한 세포 유형이고/거나 상이한 abTCR을 발현하는 abTCR 이펙터 세포들을 포함하는 복수의 abTCR 이펙터 세포 집단을 포함하는 불균질 세포 집단을 포함하는 abTCR 이펙터 세포 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 유형의 것이다. 일부 실시양태에서, 조성물 내의 모든 abTCR 이펙터 세포는 동일한 세포 유형의 것이다 (예를 들어, 모든 abTCR 이펙터 세포가 세포독성 T 세포이다). 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 세포 유형의 것이다 (예를 들어, 한 abTCR 이펙터 세포 집단은 세포독성 T 세포로 이루어지고, 다른 abTCR 이펙터 세포 집단은 천연 킬러 T 세포로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다 (예를 들어, 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 pMHC 복합체에 특이적으로 결합하고, 다른 abTCR 이펙터 세포 집단은 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합한다). 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단이 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 경우, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 질환 또는 장애와 연관된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다 (예를 들어, 각각의 표적 항원이 암, 예컨대 유방암과 연관된다). 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물은 제약 조성물이다.

[0288] 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 복수의 abTCR 이펙터 세포 집단을 포함하고, 조성물 내의 모든 abTCR 이펙터 세포가 동일한 세포 유형의 것이고 (예를 들어, 모든 abTCR 이펙터 세포가 세포독성 T 세포임), 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단이 다른 것과 상이한 abTCR을 발현하는 abTCR 이펙터 세포 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다 (예를 들어, 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 pMHC 복합체에 특이적으로 결합하고, 다른 abTCR 이펙터 세포 집단은 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합한다). 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단이 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 경우, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 질환 또는 장애와 연관된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다 (예를 들어, 각각의 표적 항원이 암, 예컨대 유방암과 연관된다). 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물은 제약 조성물이다.

[0289] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 복수의 abTCR 이펙터 세포 집단을 포함하고, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단이 다른 것과 상이한 세포 유형의 것인 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 모든 abTCR 이펙터 세포 집단은 상이한 세포 유형의 것이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 유형의 것이다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한

표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다 (예를 들어, 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 pMHC 복합체에 특이적으로 결합하고, 다른 abTCR 이펙터 세포 집단은 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합한다). 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단이 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 경우, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 질환 또는 장애와 연관된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다 (예를 들어, 각각의 표적 항원이 암, 예컨대 유방암과 연관된다). 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물은 제약 조성물이다.

[0290] 조성물 제조 동안의 다양한 시점에, 세포를 냉동보존하는 것이 필수적이거나 또는 유익할 수 있다. 용어 "동결됨/동결시키는" 및 "냉동보존됨/냉동보존하는"은 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 동결은 동결 건조를 포함한다.

[0291] 관련 분야의 통상의 기술자가 이해하는 바와 같이, 세포 동결은 파괴적일 수 있지만 (문헌 [Mazur, P., 1977, Cryobiology 14:251-272] 참조), 이러한 손상을 방지하도록 이용가능한 다수의 절차가 있다. 예를 들어, (a) 동해방지제의 사용, (b) 동결 속도의 제어, 및/또는 (c) 분해 반응을 최소화하도록 충분히 낮은 온도에서의 보관에 의해 손상을 방지할 수 있다. 예시적인 동해방지제는 디메틸 술폭시드 (DMSO) (Lovelock and Bishop, 1959, Nature 183:1394-1395; Ashwood-Smith, 1961, Nature 190:1204-1205), 글리세롤, 폴리비닐피롤리돈 (Rinfret, 1960, Ann. N.Y. Acad. Sci. 85:576), 폴리에틸렌 글리콜 (Sloviter and Ravdin, 1962, Nature 196:548), 알부민, 덱스트란, 수크로스, 에틸렌 글리콜, i-에리트리톨, D-리비톨, D-만니톨 (Rowe et al., 1962, Fed. Proc. 21 :157), D-소르비톨, i-이노시톨, D-락토스, 콜린 클로라이드 (Bender et al., 1960, J. Appl. Physiol. 15:520), 아미노산 (Phan The Tran and Bender, 1960, Exp. Cell Res. 20:651), 메탄올, 아세트아미드, 글리세롤 모노아세테이트 (Lovelock, 1954, Biochem. J. 56:265), 및 무기 염 (Phan The Tran and Bender, 1960, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104:388; Phan The Tran and Bender, 1961, Radiobiology, Proceedings of the Third Australian Conference on Radiobiology, llbery ed., Butterworth, London, p. 59)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, DMSO를 사용할 수 있다. 혈장을 (예를 들어, 20-25%의 농도로) 첨가하는 것이 DMSO의 보호 효과를 증대시킬 수 있다. DMSO 첨가 후, 동결할 때까지 세포를 0℃에서 유지시킬 수 있는데, 이는 1%의 DMSO 농도가 4℃ 초과의 온도에서 독성일 수 있기 때문이다.

[0292] 세포 냉동보존에서, 제어된 낮은 냉각 속도가 결정적일 수 있고, 상이한 동해방지제 (Rapatz et al., 1968, Cryobiology 5(1): 18-25) 및 상이한 세포 유형은 최적 냉각 속도가 상이하다 (예를 들어, 줄기 세포의 생존 및 그의 이식 잠재력에 대한 냉각 속도의 효과에 대해 문헌 [Rowe and Rinfret, 1962, Blood 20:636]; [Rowe, 1966, Cryobiology 3(1):12-18]; [Lewis, et al., 1967, Transfusion 7(1):17-32]; 및 [Mazur, 1970, Science 168:939-949]을 참조한다). 물이 얼음으로 변하는 융합 단계의 열이 최소여야 한다. 예를 들어, 프로그래밍될 수 있는 동결 장치 또는 메탄올 배스 절차를 사용하여 냉각 절차를 수행할 수 있다. 프로그래밍될 수 있는 동결 기구는 최적의 냉각 속도를 결정하는 것을 허용하고, 재현성이 있는 표준 냉각을 용이하게 한다.

[0293] 특정한 실시양태에서, DMSO-처리 세포를 얼음 상에서 예비-냉각할 수 있고, 냉장 메탄올을 함유하는 트레이로 옮길 수 있으며, 차례로, 이를 -80℃의 기계식 냉장고 (예를 들어, 해리스(Harris) 또는 레브코(Revco))에 놓는다. 메탄올 배스 및 샘플의 열전대 측정은 1 내지 3℃/분의 냉각 속도가 바람직할 수 있음을 가리킨다. 적어도 2시간 후에, 시험편이 -80℃의 온도에 도달될 수 있고, 직접적으로 액체 질소 (-196℃) 내로 놓일 수 있다.

[0294] 철저한 동결 후, 세포를 장기 극저온 보관 용기로 신속하게 옮길 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 샘플을 액체 질소 (-196℃) 또는 증기 (-1℃)에서 극저온으로 보관할 수 있다. 고도로 효율적인 액체 질소 냉장고의 이용가능성이 이러한 보관을 용이하게 한다.

[0295] 세포의 제작, 냉동보존, 및 장기 보관을 위한 추가 고려사항 및 절차를 하기의 예시적인 참고문헌에서 확인할 수 있다: 미국 특허 번호 4,199,022; 3,753,357; 및 4,559,298; 문헌 [Gorin, 1986, Clinics In Haematology 15(1):19-48]; [Bone-Marrow Conservation, Culture and Transplantation, Proceedings of a Panel, Moscow, July 22-26, 1968, International Atomic Energy Agency, Vienna, pp. 107-186]; [Livesey and Linner, 1987, Nature 327:255]; [Linner et al., 1986, J. Histochem. Cytochem. 34(9):1123-1135]; [Simione, 1992, J. Parenter. Sci. Technol. 46(6):226-32)].

[0296] 냉동보존 후, 동결된 세포를 관련 분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 따라 사용하기 위해 해동시킬 수 있다. 바람직하게는 동결된 세포는 신속하게 해동되고, 해동 시 즉각적으로 냉장된다. 특정한 실시양태에서, 동결된 세포를 함유하는 바이알을 그의 목부분까지 따뜻한 수조에 함침시킬 수 있다; 부드러운 회전이 세포 현탁액이 해동될 때의 혼합을 보장할 것이고, 따뜻한 물에서 내부의 얼음 덩어리로의 열 전달을 증가시킬 것이다.

얼음이 완전히 녹자마자, 바이알을 즉각적으로 얼음 상에 놓을 수 있다.

[0297] 특정한 실시양태에서, 해동 동안 세포 응집을 방지하기 위해 방법을 사용할 수 있다. 예시적인 방법은 동결 전 및/또는 후에 DNase (Spitzer et al., 1980, Cancer 45:3075-3085), 저분자량 덱스트란 및 시트레이트, 히드록시에틸 전분 (Stiff et al., 1983, Cryobiology 20:17-24) 등을 첨가하는 것을 포함한다. 관련 분야의 통상의 기술자가 이해하는 바와 같이, 인간에게 독성인 동해방지제가 사용되는 경우, 이는 치료적 사용 전에 제거되어야 한다. DMSO는 심각한 독성이 없다.

[0298] 예시적인 담체 및 세포 투여 방식이 미국 특허 공개 번호 2010/0183564의 14-15면에 기술되어 있다. 추가적인 제약 담체가 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21 st Edition, David B. Troy, ed., Lippicott Williams & Wilkins (2005)]에 기술되어 있다.

[0299] 특정한 실시양태에서, 세포를 배양 배지로부터 수확하고, 세정하고, 치료적 유효량으로 담체 내로 농축시킬 수 있다. 예시적인 담체는 염수, 완충 염수, 생리식염수, 물, 행크 용액, 링거 용액, 노노졸(Nonnosol)-R (애보트 랩스(Abbott Labs)), 플라즈마-라이트(Plasma-Lyte) A(R) (백스터 래버러토리즈, 인크.(Baxter Laboratories, Inc.), 일리노이주 모턴 그로브), 글리세롤, 에탄올, 및 이들의 조합물을 포함한다.

[0300] 특정한 실시양태에서, 담체에 인간 혈청 알부민 (HSA) 또는 다른 인간 혈청 성분 또는 소 태아 혈청이 보충될 수 있다. 특정한 실시양태에서, 주입용 담체는 완충 염수와 5% HAS 또는 덱스트로스를 포함한다. 추가적인 등장성 작용제는 삼가 또는 고급 당 알콜, 예컨대 글리세린, 에리트리톨, 아라비톨, 자일리톨, 소르비톨 또는 만니톨을 포함하는 다가 당 알콜을 포함한다.

[0301] 담체는 완충제, 예컨대 시트레이트 완충제, 숙시네이트 완충제, 타르트레이트 완충제, 푸마레이트 완충제, 글루코네이트 완충제, 옥살레이트 완충제, 락테이트 완충제, 아세테이트 완충제, 포스페이트 완충제, 히스티딘 완충제, 및/또는 트리메틸아민 염을 포함할 수 있다.

[0302] 안정화제는 기능 면에서 벌크화제부터 용기 벽으로의 세포 부착을 방지하는 것을 돕는 첨가제까지의 범위에 이를 수 있는 광범위한 범주의 부형제를 지칭한다. 전형적인 안정화제는 다가 당 알콜; 아미노산, 예컨대 아르기닌, 라이신, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 알라닌, 오르니틴, L-류신, 2-페닐알라닌, 글루탐산, 및 트레오닌; 유기 산 또는 당 알콜, 예컨대 락토스, 트레할로스, 스타키오스, 만니톨, 소르비톨, 자일리톨, 리비톨, 미오이니시톨, 갈락티톨, 글리세롤, 및 시클리톨, 예컨대 이노시톨; PEG; 아미노산 중합체; 황-함유 환원제, 예컨대 요소, 글루타티온, 티옥트산, 소듐 티오글리콜레이트, 티오글리세롤, 알파-모노티오글리세롤, 및 소듐 티오술페이트; 저분자량 폴리펩티드 (즉, <10개의 잔기); 단백질 예컨대 HSA, 소 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 단당류 예컨대 자일로스, 만노스, 프룩토스 및 글루코스; 이당류 예컨대 락토스, 말토스 및 수크로스; 삼당류 예컨대 라피노스, 및 다당류 예컨대 덱스트란을 포함할 수 있다.

[0303] 필수적이거나 또는 유익한 경우, 조성물은 주사 부위에서의 통증을 완화하기 위해 국소 마취제 예컨대 리도카인을 포함할 수 있다.

[0304] 예시적인 방부제는 페놀, 벤질 알콜, 메타-크레졸, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 벤즈알코늄 할라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레조르시놀, 시클로헥사놀, 및 3-펜타놀을 포함한다.

[0305] 조성물 내의 세포의 치료적 유효량은 10^2개 초과의 세포, 10^3개 초과의 세포, 10^4개 초과의 세포, 10^5개 초과의 세포, 10^6개 초과의 세포, 10^7개 초과의 세포, 10^8개 초과의 세포, 10^9개 초과의 세포, 10^{10}개 초과의 세포, 또는 10^{11}개 초과의 세포일 수 있다.

[0306] 본원에 개시된 조성물 및 제형에서, 세포는 일반적으로 1 리터 이하, 500 ml 이하, 250 ml 이하 또는 100 ml 이하의 부피이다. 따라서, 투여되는 세포의 밀도는 전형적으로 10^4개의 세포/ml, 10^7개의 세포/ml 또는 10^8개의 세포/ml 초과이다.

[0307] 본원에 기술된 abTCR을 코딩하는 핵산 중 임의의 것을 포함하는 abTCR 핵산 조성물 (예컨대 제약 조성물이고, 본원에서 제형으로도 지칭됨)이 본원에서 또한 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR 핵산 조성물은 제약 조성물이다. 일부 실시양태에서, abTCR 핵산 조성물은 등장화제, 부형제, 희석제, 증점제, 안정화제, 완충제 및/또는 방부제; 및/또는 수성 비히클, 예컨대 정제수, 수성 당 용액, 완충제 용액, 생리식염수, 수성 중합체 용액,

또는 RNase 무함유 물 중 임의의 것을 추가로 포함한다. 첨가될 이러한 첨가제 및 수성 비히클의 양은 abTCR 핵산 조성물의 사용 형태에 따라 적절하게 선택될 수 있다.

[0308] 본원에 개시된 조성물 및 제형은, 예를 들어, 주사, 주입, 관류 또는 세척에 의한 투여용으로 제조될 수 있다. 조성물 및 제형은 골수, 정맥내, 피내, 동맥내, 절내, 림프내, 복막내, 병변내, 전립선내, 질내, 직장내, 국소, 경막내, 종양내, 근육내, 낭내, 및/또는 피하 주사용으로 추가로 제형될 수 있다.

[0309] 생체내 투여용으로 사용될 제형은 무균성이어야 한다. 이는, 예를 들어, 무균 여과 막을 통한 여과에 의해, 쉽게 달성된다.

[0310] **abTCR을 사용한 치료 방법**

[0311] 본 발명의 abTCR 및/또는 조성물은 암 및 감염성 질환 (예컨대 바이러스성 감염)을 예를 들어 포함하는, 표적 항원 (TA) 발현과 연관된 질환 및/또는 장애 (본원에서 "표적-항원 양성" 또는 "TA-양성" 질환 또는 장애로도 지칭됨)를 치료하기 위해 개체 (예를 들어, 포유동물 예컨대 인간)에게 투여될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서 본 출원은 항체 모이어티를 포함하는 abTCR, 예컨대 본원에 기술된 abTCR 중 어느 하나를 포함하는 조성물 (예컨대 제약 조성물)을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 표적 항원-양성 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 abTCR과 회합된 세포 (예컨대 이펙터 세포)를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 예를 들어, 암은 부신피질 암종, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 식도암, 교모세포종, 신경교종, 간세포성 암종, 두경부암, 신장암, 폐암, 흑색종, 중피종, 다발성 골수종, 췌장암, 크롬친화세포종, 형질세포종, 신경모세포종, 난소암, 전립선암, 육종, 위암, 자궁암 및 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 바이러스성 감염은 시토메갈로바이러스 (CMV), 엡스타인-바르 바이러스 (EBV), B형 간염 바이러스 (HBV), 카포시 육종 연관 헤르페스바이러스 (KSHV), 인간 유두종 바이러스 (HPV), 몰루스쿰 콘타기오숨 바이러스 (MCV), 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1 (HTLV-1), HIV (인간 면역결핍 바이러스), 및 C형 간염 바이러스 (HCV)로 이루어진 군으로부터 예를 들어 선택된 바이러스에 의해 야기된다.

[0312] 예를 들어, 일부 실시양태에서, a) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈, 및 b) 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 포함하는 abTCR (예컨대 단리된 abTCR)을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 V_H 항체 도메인, C_H1 항체 도메인, V_L 항체 도메인, 및 C_L 항체 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR, 예컨대 αβTCR 또는 γδTCR의 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 세포외 도메인의 적어도 하나의 부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 적어도 하나의 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 세포내 도메인은 TCR의 세포내 도메인, 공동-자극성 세포내 신호전달 서열, 에피토프 태그, 또는 이들의 조합물로부터 선택된 서열 중 임의의 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 적어도 하나의 디술피드 결합을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원 결합 모듈은 디술피드 결합을 포함하고/거나 TCRM은 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원 결합 모듈은 C_H1 도메인 내의 잔기와 C_L 도메인 내의 잔기 사이에 디술피드 결합을 포함하고/거나 TCRM은 제1 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 연결 펩티드 내의 잔기 사이에 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈과 TCRM 사이에 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 abTCR 이펙터 세포의 고갈을 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 일부 실시양태에서, 방법은 abTCR 이펙터 세포의 최종 분화를 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 일부 실

시양태에서, 방법은 abTCR 이펙터 세포 상의 abTCR의 내재화를 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 일부 실시양태에서, 방법은 abTCR 이펙터 세포의 증식 증가를 초래한다.

[0313] 일부 실시양태에서, a) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fv-유사 항원-결합 모듈, 및 b) 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 포함하는 abTCR (예컨대 단리된 abTCR)을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 표적 항원은 펩티드/MHC 복합체인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fv-유사 항원-결합 모듈은 V_H 항체 도메인 및 V_L 항체 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, V_L 항체 도메인의 C-말단에 융합된 제1 펩티드 링커 및/또는 V_H 항체 도메인의 C-말단에 융합된 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 펩티드 링커는 서로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 이뮤노글로불린 중쇄 및/또는 경쇄 불변 영역으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 TCR 서브유닛 불변 영역으로부터 유래된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 a) TCR α 및 β 서브유닛 불변 도메인; 또는 b) TCR γ 및 δ 서브유닛 불변 도메인으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 합성이다. 일부 실시양태에서, Fv-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR, 예컨대 αβTCR 또는 γδTCR의 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR, 예컨대 αβTCR 또는 γδTCR의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인 및 연결 펩티드는 αβTCR 또는 γδTCR로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 막횡단 도메인은 αβTCR로부터 유래되고 연결 펩티드는 γδTCR로부터 유래되거나, 또는 막횡단 도메인은 γδTCR로부터 유래되고 연결 펩티드는 αβTCR로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 세포외 도메인의 적어도 하나의 부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하는 적어도 하나의 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 TCR 서브유닛의 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 적어도 하나의 디술피드 결합을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커는 디술피드 결합을 포함하고/거나 TCRM은 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 제1 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 연결 펩티드 내의 잔기 사이에 디술피드 결합을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 표적 항원 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 방법은 abTCR 이펙터 세포의 고갈을 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 일부 실시양태에서, 방법은 abTCR 이펙터 세포의 최종 분화를 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 일부 실시양태에서, 방법은 abTCR 이펙터 세포 상의 abTCR의 내재화를 최소로 초래하거나 또는 실질적으로 초래하지 않는다. 일부 실시양태에서, 방법은 abTCR 이펙터 세포의 증식 증가를 초래한다.

[0314] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있

는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR β 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR α 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR γ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 서브유닛은 TCR δ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛은 TCR γ 쇄이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 서브유닛의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 서브유닛의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 제1 TCR 서브유닛의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 제2 TCR 서브유닛의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다.

[0315] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 TCR α 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 TCR β 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR α 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR β 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR α 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR β 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 TCR α 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 TCR β 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신

호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0316] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 TCR β 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 TCR α 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR β 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR α 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR β 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR α 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 TCR β 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 TCR α 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원

이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0317] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 TCR γ 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 TCR δ 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR γ 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR δ 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR γ 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR δ 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 TCR γ 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 TCR δ 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터

세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0318] 일부 실시양태에서, a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인 및 TCR δ 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인 및 TCR γ 쇄의 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR δ 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR γ 쇄의 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 TCR δ 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 TCR γ 쇄의 세포외 도메인의 일부분을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCRD는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하고/거나 제2 TCRD는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 TCR 세포내 도메인은 TCR δ 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함하고/거나 제2 TCR 세포내 도메인은 TCR γ 쇄의 세포내 도메인으로부터의 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커가 있다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄는 예컨대 공유결합 연결 (예를 들어, 펩티드 또는 다른 화학적 연결) 또는 비-공유결합 연결에 의해 연결된다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) 제1 항원-결합 도메인 내의 C_H1 항체 도메인 내의 잔기와 제2 항원-결합 도메인 내의 C_L 항체 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0319] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 15의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고,

여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) Fab-유사 항원-결합 모듈 내의 C_H1 및 C_L 항체 도메인 내의 잔기들 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0320] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 17의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 18의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) Fab-유사 항원-결합 모듈 내의 C_H1 및 C_L 항체 도메인 내의 잔기들 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질

환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0321] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 19의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서, abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) Fab-유사 항원-결합 모듈 내의 C_H1 및 C_L 항체 도메인 내의 잔기들 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0322] 일부 실시양태에서, a) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제1 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 아미노 말단에서 카르복시 말단의 순서로, 제2 항원-결합 도메인 및 서열식별번호: 22의 아미노산 서열을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 표적 항원을 특이적으로 인식하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 항원-결합 도메인 및 제2 항원-결합 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 Fab-유사 항원-결합 모듈을 형성하고, 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 TCRM을 형성하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fab-유사 항원-결합 모듈은 인간 모듈, 인간화 모듈, 키메라 모듈, 반-합성 모듈, 또는 완전 합성 모듈이다. 일부 실시양태에서,

abTCR은 a) 서열식별번호: 70 또는 71의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 적어도 하나의 T 세포 공동자극성 신호전달 서열; 및/또는 b) 서열식별번호: 50-52 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 (예컨대 그로 이루어진) 에피토프 태그를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, abTCR은 제1 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제1 신호 펩티드 및/또는 제2 항원-결합 도메인의 아미노-말단의 제2 신호 펩티드를 추가로 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, TCRM은 CD3δε, CD3γε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있다. 일부 실시양태에서, TCRM은 abTCR-CD3 복합체 형성을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 a) 제1 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 TCRD의 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합; 및/또는 b) Fab-유사 항원-결합 모듈 내의 C_H1 및 C_L 항체 도메인 내의 잔기들 사이의 디술피드 결합을 통해 연결된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 세포 표면 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 질환-연관 항원, 예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원이다. 일부 실시양태에서, 세포 표면 항원은 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5이다. 일부 실시양태에서, 표적 항원은 표면-제시 펩티드/MHC 복합체이다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 질환-연관 항원 (예컨대 종양-연관 또는 바이러스-코딩 항원)으로부터 유래된 펩티드 및 MHC 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 펩티드/MHC 복합체는 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하며, 여기서 펩티드는 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, MHC 단백질은 MHC 클래스 I 단백질이다. 일부 실시양태에서, MHC 클래스 I 단백질은 HLA-A이다. 일부 실시양태에서, HLA-A는 HLA-A02이다. 일부 실시양태에서, HLA-A02는 HLA-A*02:01이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0323] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 24의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, AFP-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 AFP-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0324] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, AFP-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 AFP-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키

도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0325] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, AFP-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 AFP-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR α 및/또는 β 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0326] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, AFP-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 AFP-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0327] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, AFP-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 AFP-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 αβ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0328] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, AFP-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 AFP-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 α β T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γ δ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0329] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, AFP-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 AFP-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 α β T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γ δ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0330] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, CD19-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 CD19-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 α β T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γ δ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0331] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 42의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, CD19-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 CD19-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를

포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 α β T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γ δ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0332] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, CD19-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 CD19-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 α β T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γ δ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0333] 일부 실시양태에서, a) 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 제1 abTCR 도메인을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및 b) 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 제2 abTCR 도메인을 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄를 포함하는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포 (예컨대 T 세포 또는 천연 킬러 세포)를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드 쇄 및 제2 폴리펩티드 쇄는 하나 이상의 디술피드 결합을 통해 연결되는 것인, CD19-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 CD19-연관 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 T 세포 공동자극성 신호전달 서열 (예컨대 CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, 또는 CD40으로부터의 것) 및/또는 에피토프 태그 (예컨대 HA, FLAG, 또는 myc)를 포함하는 적어도 하나의 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 서열식별번호: 50-52의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 쇄는 제1 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제1 신호 펩티드를 추가로 포함하고/거나 제2 폴리펩티드 쇄는 제2 abTCR 도메인의 아미노 말단에 제2 신호 펩티드를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및/또는 제2 신호 펩티드는 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다 (예컨대 그로 이루어진다). 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 α β T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 TCR γ 및/또는 δ 쇄의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γ δ T 세포이다. 일부 실시양태에서, 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0334] 상이한 abTCR을 발현하는 복수의 이펙터 세포를 포함하는 조성물을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 항원-연관 질환 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환을 치료하는 방법이 또한 구상된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 개체에서 표적 항원-연관 질환을 치료하는 방법 중 임의의 것에따르면, 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 불균질 abTCR 이펙터 세포 조성물이다.

[0335] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 복수의 abTCR 이펙터 세포 집단을 포함하는 불균질 abTCR 이펙터 세포 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 조성물 내의 모든 abTCR 이펙터 세포는 동일한 세포 유형의 것이고 (예를 들어, 모든 abTCR 이펙터 세포가 세포독성 T 세포임), 여기서 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현하고, 여기서 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태

에서, abTCR 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단이 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 경우, 각각의 상이한 표적 항원은 표적 항원-연관 질환과 연관된다.

[0336] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 복수의 abTCR 이펙터 세포 집단을 포함하는 불균질 abTCR 이펙터 세포 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 세포 유형의 것이고, 여기서 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 것인, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 모든 abTCR 이펙터 세포 집단은 상이한 세포 유형의 것이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 유형의 것이다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 동일한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현한다. 일부 실시양태에서, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단이 상이한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 경우, 각각의 상이한 표적 항원은 표적 항원-연관 질환과 연관된다.

[0337] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 복수의 abTCR 이펙터 세포 집단을 포함하는 불균질 abTCR 이펙터 세포 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 조성물 내의 모든 abTCR 이펙터 세포는 동일한 세포 유형의 것이고 (예를 들어, 모든 abTCR 이펙터 세포가 세포독성 T 세포임), 여기서 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현하고, 여기서 복수의 표적 항원 중 각각의 표적 항원에 대해, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 것인, 복수의 표적 항원과 연관된 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 복수의 표적 항원과 연관된 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0338] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 복수의 abTCR 이펙터 세포 집단을 포함하는 불균질 abTCR 이펙터 세포 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 세포 유형의 것이고, 여기서 복수의 표적 항원 중 각각의 표적 항원에 대해, 적어도 하나의 abTCR 이펙터 세포 집단은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 발현하는 것인, 복수의 표적 항원과 연관된 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 복수의 표적 항원과 연관된 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 모든 abTCR 이펙터 세포 집단은 상이한 세포 유형의 것이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 T 세포이다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 유형의 것이다. 일부 실시양태에서, 각각의 abTCR 이펙터 세포 집단은 다른 것과 상이한 abTCR을 발현한다.

[0339] 일부 실시양태에서, 개체는 포유동물 (예를 들어, 인간, 비-인간 영장류, 래트, 마우스, 소, 말, 돼지, 양, 염소, 개, 고양이 등)이다. 일부 실시양태에서, 개체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 개체는 임상 환자, 임상 시험 지원자, 실험 동물 등이다. 일부 실시양태에서, 개체는 약 60세 미만이다 (예를 들어 약 50, 40, 30, 25, 20, 15, 또는 10세 중 임의의 것 미만을 포함함). 일부 실시양태에서, 개체는 약 60세를 초과한다 (예를 들어 약 70, 80, 90, 또는 100세 중 임의의 것을 초과함). 일부 실시양태에서, 개체는 본원에 기술된 질환 또는 장애 중 하나 이상 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)으로 진단되거나, 또는 실험적으로 또는 유전적으로 이에 걸리기 쉽다. 일부 실시양태에서, 개체는 하나 이상의 본원에 기술된 질환 또는 장애와 연관된 하나 이상의 위험 요소가 있다.

[0340] 일부 실시양태에서, 본 발명의 abTCR 이펙터 세포 조성물은 표적 항원 발현을 수반하는 질환 또는 장애를 치료하는 제2, 제3 또는 제4 작용제 (예를 들어, 항신생물제, 성장 억제제, 세포독성제, 또는 화학요법제를 포함

함)와 조합되어 투여된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물은 시토카인 (예컨대 IL-2)과 조합되어 투여된다. 일부 실시양태에서, abTCR은 MHC 단백질의 발현을 증가시키고/거나 MHC 단백질에 의한 펩티드의 표면 제시를 강화하는 작용제와 조합되어 투여된다. 일부 실시양태에서, 작용제는, 예를 들어, IFN 수용체 효능제, Hsp90 억제제, p53 발현 인핸서, 및 화학요법제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 IFNγ, IFNβ, 및 IFNα를 예를 들어 포함하는 IFN 수용체 효능제이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 타네스티마이신 (17-AAG), 알베스피마이신 (17-DMAG), 레타스피마이신 (IPI-504), IPI-493, CNF2024/BIIB021, MPC-3100, 데비오(Debio) 0932 (CUDC-305), PU-H71, 가네테스핍(Ganetespib) (STA-9090), NVP-AUY922 (VER-52269), HSP990, KW-2478, AT13387, SNX-5422, DS-2248, 및 XL888을 예를 들어 포함하는 Hsp90 억제제이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 5-플루오로우라실 및 누트린-3을 예를 들어 포함하는 p53 발현 인핸서이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 토포테칸, 에토포시드, 시스플라틴, 파클리탁셀 및 빈블라스틴을 예를 들어 포함하는 화학요법제이다.

[0341] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR 이펙터 세포 조성물을 시토카인 (예컨대 IL-2)과 조합하여 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 항원-양성 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-양성 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물 및 시토카인은 동시에 투여된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물 및 시토카인은 순차적으로 투여된다.

[0342] 일부 실시양태에서, 표적 항원을 발현하는 세포가 표적 항원 및 MHC 클래스 I 단백질을 포함하는 복합체를 표면상에 일반적으로 제시하지 않거나 또는 비교적 낮은 수준으로 제시하고, 방법이 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR 이펙터 세포 조성물을 MHC 클래스 I 단백질의 발현을 증가시키고/거나 MHC 클래스 I 단백질에 의한 표적 항원의 표면 제시를 강화하는 작용제와 조합하여 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 항원-양성 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-양성 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 작용제는, 예를 들어, IFN 수용체 효능제, Hsp90 억제제, p53 발현 인핸서, 및 화학요법제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 작용제는 IFNγ, IFNβ, 및 IFNα를 예를 들어 포함하는 IFN 수용체 효능제이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 타네스티마이신 (17-AAG), 알베스피마이신 (17-DMAG), 레타스피마이신 (IPI-504), IPI-493, CNF2024/BIIB021, MPC-3100, 데비오 0932 (CUDC-305), PU-H71, 가네테스핍 (STA-9090), NVP-AUY922 (VER-52269), HSP990, KW-2478, AT13387, SNX-5422, DS-2248, 및 XL888을 예를 들어 포함하는 Hsp90 억제제이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 5-플루오로우라실 및 누트린-3을 예를 들어 포함하는 p53 발현 인핸서이다. 일부 실시양태에서, 작용제는 토포테칸, 에토포시드, 시스플라틴, 파클리탁셀 및 빈블라스틴을 예를 들어 포함하는 화학요법제이다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물 및 작용제는 동시에 투여된다. 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포 조성물 및 작용제는 순차적으로 투여된다.

[0343] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 실시양태 중 임의의 것에 따른 abTCR을 코딩하는 핵산을 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)을 치료하는 방법이 제공된다. 유전자 전달을 위한 방법은 관련 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 본원에 전문이 참조로 포함된 미국 특허 번호 5,399,346, 5,580,859, 5,589,466을 참조한다.

[0344] 암 치료를, 예를 들어, 종양 퇴행, 종양 중량 또는 크기 축소, 진행까지의 시간, 생존 기간, 무진행 생존, 전체 반응률, 반응 기간, 삶의 질, 단백질 발현 및/또는 활성에 의해 평가할 수 있다. 방사선 영상화를 통한 반응 측정을 예를 들어 포함하여, 요법의 효능을 결정하는 접근법을 사용할 수 있다.

[0345] 일부 실시양태에서, 치료 효능은 등식 100-(T/C x 100) [식 중, T는 치료된 종양의 평균 상대 종양 부피이고, C는 치료되지 않은 종양의 평균 상대 종양 부피이다]을 사용하여 계산된 백분율 종양 성장 억제 (% TGI)로서 측정된다. 일부 실시양태에서, %TGI는 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 또는 95% 초과이다.

[0346] 바이러스성 감염 치료를, 예를 들어, 바이러스 로드, 생존 기간, 삶의 질, 단백질 발현 및/또는 활성에 의해 평가할 수 있다.

[0347] **질환**

[0348] abTCR 이펙터 세포는, 일부 실시양태에서, 표적 항원과 연관된 암을 치료하는데 유용할 수 있다. 임의의 본원에 기술된 방법을 사용하여 치료될 수 있는 암은 혈관화되지 않았거나 아직 실질적으로 혈관화되지 않은 종양, 뿐만 아니라 혈관화된 종양을 포함한다. 암은 비-고형 종양 (예컨대 혈액 종양, 예를 들어, 백혈병 및 림프

종)을 포함할 수 있거나, 또는 고형 종양을 포함할 수 있다. 본 발명의 abTCR 이펙터 세포로 치료될 암의 유형은 암종, 모세포종, 및 육종, 및 특정 백혈병 또는 림프 악성종양, 양성 및 악성 종양, 및 악성종양 예를 들어, 육종, 암종, 및 흑색종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 성인 종양/암 및 소아 종양/암이 또한 포함된다.

[0349] 혈액암은 혈액 또는 골수의 암이다. 혈액암 (또는 조혈성 암)의 예는 급성 백혈병 (예컨대 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수구성 백혈병, 급성 골수 백혈병 및 골수모구성, 전골수구성, 골수단핵구성, 단핵구성 및 적백혈병), 만성 백혈병 (예컨대 만성 골수구성 (과립구성) 백혈병, 만성 골수 백혈병 및 만성 림프구성 백혈병)을 포함하는 백혈병, 진성 다혈구혈증, 림프종, 호지킨병, 비-호지킨 림프종 (무통성 및 고등급 형태), 다발성 골수종, 형질세포종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 중쇄 질환, 골수이형성 증후군, 모발상 세포 백혈병 및 골수이형성증을 포함한다.

[0350] 고형 종양은 일반적으로 낭 또는 액체 구역을 함유하지 않는 조직의 비정상적인 덩어리이다. 고형 종양은 양성 또는 악성일 수 있다. 여러 유형의 고형 종양이 이를 형성하는 세포의 유형에 대해 명명된다 (예컨대 육종, 암종 및 림프종). 고형 종양, 예컨대 육종 및 암종의 예는 부신피질 암종, 담관암종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 및 기타 육종, 활막종, 중피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 결장 암종, 위암, 림프 악성종양, 췌장암, 유방암, 폐암, 난소암, 전립선암, 간세포성 암종, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 한선 암종, 갑상선암 (예를 들어, 수질성 갑상선 암종 및 유두상 갑상선 암종), 크롬친화세포종 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질성 암종, 기관지원성 암종, 신세포 암종, 간세포암, 담관 암종, 융모막암종, 윌름스 종양, 자궁경부암 (예를 들어, 자궁경부 암종 및 침습-전 자궁목 형성이상), 결장직장암, 항문, 항문관 또는 항문직장의 암, 질암, 외음부의 암 (예를 들어, 편평 세포 암종, 상피내 암종, 선암종, 및 섬유육종), 음경암, 구인두암, 식도암, 두부암 (예를 들어, 편평 세포 암종), 경부암 (예를 들어, 편평 세포 암종), 고환암 (예를 들어, 정상피종, 기형종, 배아성 암종, 기형암종, 융모막암종, 육종, 라이디히 세포 종양, 섬유종, 섬유선종, 선종양 종양 및 지방종), 방광 암종, 신장암, 흑색종, 자궁의 암 (예를 들어, 자궁내막암종), 요로상피암 (예를 들어, 편평 세포 암종, 이행 세포 암종, 선암종, 요관암 및 방광암), 및 CNS 종양 (예컨대 신경교종 (예컨대 뇌간 신경교종 및 혼합 신경교종), 교모세포종 (일명 다형성 교모세포종) 성상세포종, CNS 림프종, 배세포종, 수모세포종, 슈반세포종 두개인두종, 뇌실막세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 핍지교종, 수막종, 신경모세포종, 망막모세포종 및 뇌 전이)을 포함한다.

[0351] 암 치료를, 예를 들어, 종양 퇴행, 종양 중량 또는 크기 축소, 진행까지의 시간, 생존 기간, 무진행 생존, 전체 반응률, 반응 기간, 삶의 질, 단백질 발현 및/또는 활성에 의해 평가할 수 있다. 방사선 영상화를 통한 반응 측정을 예를 들어 포함하여, 요법의 효능을 결정하는 접근법을 사용할 수 있다.

[0352] abTCR 이펙터 세포는, 다른 실시양태에서, 병원체-연관 (예컨대 바이러스-코딩) 항원을 표적화함으로써 감염성 질환을 치료하는데 유용할 수 있다. 예방 또는 치료될 감염은, 예를 들어, 바이러스, 박테리아, 원생동물, 또는 기생충에 의해 야기될 수 있다. 표적 항원은 병원체가 야기하는 질환을 담당하거나 또는 병원체로 감염된 숙주에서 면역학적 반응을 유도할 수 있는 병원성 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드일 수 있다. abTCR 이펙터 세포가 표적화할 수 있는 병원성 항원은 아시네토박터 바우만니이(Acinetobacter baumannii), 아나플라스마(Anaplasma) 속, 아나플라스마 파고시토필룸(Anaplasma phagocytophilum), 안실로스토마 브라질리엔세(Ancylostoma braziliense), 안실로스토마 두오데날레(Ancylostoma duodenale), 아카노박테리움 헤몰리티쿰(Arcanobacterium haemolyticum), 아스카리스 룸브리코이데스(Ascaris lumbricoides), 아스레르길루스(Aspergillus) 속, 아스트로비리다에(Astroviridae), 바베시아(Babesia) 속, 바실루스 안트라시스(Bacillus anthracis), 바실루스 세레우스(Bacillus cereus), 바르토넬라 헨셀라에(Bartonella henselae), BK 바이러스, 블라스토시스티스 호미니스(Blastocystis hominis), 블라스토미세스 더마티티디스(Blastomyces dermatitidis), 보르데텔라 페르투시스(Bordetella pertussis), 보렐리아 부르그도르페리(Borrelia burgdorferi), 보렐리아(Borrelia) 속, 보렐리아(Borrelia) 종, 브루셀라(Brucella) 속, 브루기아 말레이이(Brugia malayi), 부니아비리다에(Bunyaviridae) 과, 부르크홀데리아 세파시아(Burkholderia cepacia) 및 기타 부르크홀데리아(Burkholderia) 종, 부르크홀데리아 말레이(Burkholderia mallei), 부르크홀데리아 슈도말레이(Burkholderia pseudomallei), 칼리시비리다에(Caliciviridae) 과, 캄필로박터(Campylobacter) 속, 칸디다 알비칸스(Candida albicans), 칸디다(Candida) 종, 클라미디아 트라코마티스(Chlamydia trachomatis), 클라미도필라 뉴모니아에(Chlamydophila pneumoniae), 클라미도필라 프시타시(Chlamydophila psittaci), CJD 프리온, 클로노르키스 시넨시스(Clonorchis sinensis), 클로스트리디움 보툴리눔(Clostridium botulinum), 클로스트리디움 디피실레(Clostridium difficile), 클로스트리디움 페르프린겐스(Clostridium perfringens), 클로스트리디움 페르프린겐스, 클로스트리디움(Clostridium) 종, 클로스트리디움 테타니(Clostridium tetani), 콕시디오이데스

(Coccidioides) 종, 코로나바이러스, 코리네박테리움 디프테리아에(Corynebacterium diphtheriae), 콕시엘라 부르네티(Coxiella burnetii), 크리미아-콩고 출혈열 바이러스, 크립토콕쿠스 네오포르만스(Cryptococcus neoformans), 크립토스포리디움(Cryptosporidium) 속, 시토메갈로바이러스 (CMV), 뎅기(Dengue) 바이러스 (DEN-1, DEN-2, DEN-3 및 DEN-4), 디엔타모에바 프라길리스(Dientamoeba fragilis), 에볼라바이러스 (Ebolavirus) (EBOV), 에키노코쿠스(Echinococcus) 속, 에를리키아 샤펜시스(Ehrlichia chaffeensis), 에를리키아 에윈기이(Ehrlichia ewingii), 에를리키아(Ehrlichia) 속, 엔타모에바 히스톨리티카(Entamoeba histolytica), 엔테로코쿠스(Enterococcus) 속, 엔테로바이러스(Enterovirus) 속, 엔테로바이러스 (Enterovirus), 주로 콕사키(Coxsackie) A 바이러스 및 엔테로바이러스 71 (EV71), 에피더모피톤 (Epidermophyton) 종, 엡스타인-바르 바이러스 (EBV), 에스케리키아 콜라이(Escherichia coli) O157:H7, O111 및 O104:H4, 파스시올라 헤파티카(Fasciola hepatica) 및 파스시올라 자이언티카(Fasciola gigantica), FFI 프리온, 필라리오이데아(Filarioidea) 상과, 플라비바이러스(Flavivirus), 프란시셀라 툴라렌시스(Francisella tularensis), 푸소박테리움(Fusobacterium) 속, 게오트리쿰 칸디둠(Geotrichum candidum), 지아르디아 인테스티날리스(Giardia intestinalis), 그나토스토마(Gnathostoma) 종, GSS 프리온, 구아나리토(Guanarito) 바이러스, 헤모필루스 두크레이이(Haemophilus ducreyi), 헤모필루스 인플루엔자에(Haemophilus influenzae), 헬리코박터 필로리(Helicobacter pylori), 헤니파바이러스(Henipavirus) (헨드라(Hendra) 바이러스 니파(Nipah) 바이러스), A형 간염 바이러스, B형 간염 바이러스(HBV), C형 간염 바이러스(HCV), D형 간염 바이러스, E형 간염 바이러스, 헤르페스 심플렉스(Herpes simplex) 바이러스 1 및 2 (HSV-1 및 HSV-2), 히스토플라스마 캡슐라툼 (Histoplasma capsulatum), HIV (인간 면역결핍 바이러스), 호르타에아 웨르넥키이(Hortaea werneckii), 인간 보카바이러스 (HBoV), 인간 헤르페스 바이러스 6 (HHV-6) 및 인간 헤르페스 바이러스 7 (HHV-7), 인간 메타뉴모바이러스 (hMPV), 인간 파필로마바이러스 (HPV), 인간 파라인플루엔자 바이러스 (HPIV), 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1 (HTLV-1), 일본 뇌염 바이러스, JC 바이러스, 주닌(Junin) 바이러스, 카포시 육종 연관 헤르페스바이러스 (KSHV), 킨겔라 킨가에(Kingella kingae), 클레브시엘라 그라눌로마티스(Klebsiella granulomatis), 쿠루(Kuru) 프리온, 라싸(Lassa) 바이러스, 레지오넬라 뉴모필라(Legionella pneumophila), 레슈마니아(Leishmania) 속, 렙토스피라(Leptospira) 속, 리스테리아 모노사이토게네스(Listeria monocytogenes), 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV), 마추포(Machupo) 바이러스, 말라세지아(Malassezia) 종, 마르부르그(Marburg) 바이러스, 홍역 바이러스, 메타고니무스 요카가와이(Metagonimus yokagawai), 마이크로스포리디아 필룸(Microsporidia phylum), 몰루스쿰 콘타기오숨 바이러스 (MCV), 볼거리 바이러스, 미코박테리움 레프라에(Mycobacterium leprae) 및 미코박테리움 레프로마토시스(Mycobacterium lepromatosis), 미코박테리움 투베르쿨로시스(Mycobacterium tuberculosis), 미코박테리움 우르세란스(Mycobacterium ulcerans), 마이코플라즈마 뉴모니아에(Mycoplasma pneumoniae), 나에글레리아 포울레리(Naegleria fowleri), 네카토르 아메리카누스(Necator americanus), 네이세리아 고노로에아에(Neisseria gonorrhoeae), 네이세리아 메닌기티디스(Neisseria meningitidis), 노카디아 아스테로이데스(Nocardia asteroides), 노카디아(Nocardia) 종, 온코세르카 볼부루스(Onchocerca volvulus), 오리엔티아 쯔쯔가무시(Orientia tsutsugamushi), 오르토믹소비리다에(Orthomyxoviridae) 과 (인플루엔자), 파라콕시디오이데스 브라질리엔시스(Paracoccidioides brasiliensis), 파라고니무스(Paragonimus) 종, 파라고니무스 웨스테르마니(Paragonimus westermani), 파보바이러스(Parvovirus) B19, 파스테우렐라(Pasteurella) 속, 플라스모디움(Plasmodium) 속, 뉴모시티스 지로베시이(Pneumocystis jirovecii), 폴리오바이러스(Poliovirus), 광견병 바이러스, 호흡기 융합 바이러스 (RSV), 리노바이러스(Rhinovirus), 리노바이러스, 리케치아 아카리(Rickettsia akari), 리케치아(Rickettsia) 속, 리케치아 프로와제키이(Rickettsia prowazekii), 리케치아 리케치아(Rickettsia rickettsia), 리케치아 티피(Rickettsia typhi), 리프트 계곡(Rift Valley) 열 바이러스, 로타바이러스(Rotavirus), 풍진 바이러스, 사비아(Sabia) 바이러스, 살모넬라(Salmonella) 속, 사르코프테스 스카비에이(Sarcoptes scabiei), SARS 코로나바이러스, 스키스토소마(Schistosoma) 속, 시겔라(Shigella) 속, 신 놈브레(Sin Nombre) 바이러스, 한타바이러스(Hantavirus), 스포로트릭스 스첸키이(Sporothrix schenckii), 스타필로코쿠스(Staphylococcus) 속, 스타필로코쿠스 속, 스트렙토코쿠스 아갈락티아에(Streptococcus agalactiae), 스트렙토코쿠스 뉴모니아에(Streptococcus pneumoniae), 스트렙토코쿠스 파이오게네스(Streptococcus pyogenes), 스트롱길로이데스 스테르코랄리스(Strongyloides stercoralis), 타에니아(Taenia) 속, 타에니아 솔리움(Taenia solium), 진드기-매개 뇌염 바이러스 (TBEV), 톡소카라 카니스(Toxocara canis) 또는 톡소카라 카티(Toxocara cati), 톡소플라즈마 곤디이(Toxoplasma gondii), 트레포네마 팔리둠(Treponema pallidum), 트리키넬라 스피랄리스(Trichinella spiralis), 트리코모나스 바기날리스(Trichomonas vaginalis), 트리코파이톤(Trichophyton) 종, 트리쿠리스 트리키우라(Trichuris trichiura), 트리파노소마 브루세이(Trypanosoma brucei), 트리파노소마 크루지(Trypanosoma cruzi), 우레아플라즈마 우레알리티쿰(Ureaplasma urealyticum), 바리셀라 조스터(Varicella

zoster) 바이러스 (VZV), 바리셀라 조스터 바이러스 (VZV), 바리올라 메이저(Variola major) 또는 바이올라 마이너(Variola minor), vCJD 프리온, 베네수엘라 말 뇌염 바이러스, 비브리오 콜레라에(Vibrio cholerae), 웨스트 나일(West Nile) 바이러스, 서부형 말 뇌염 바이러스, 우케레리아 반크로프티(Wuchereria bancrofti), 황열병 바이러스, 예르시니아 엔테로콜리티카(Yersinia enterocolitica), 예르시니아 페스티스(Yersinia pestis), 및 예르니아 슈도투베르쿨로시스(Yersinia pseudotuberculosis)로부터 유래된 항원을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0353] 일부 실시양태에서, abTCR 이펙터 세포는 종양발생성 감염성 질환, 예컨대 종양발생성 바이러스를 치료하는데 사용될 수 있다. 종양발생성 바이러스는 CMV, EBV, HBV, KSHV, HPV, MCV, HTLV-1, HIV-1, 및 HCV를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. abTCR의 표적 항원은 Tax, E7, E6/E7, E6, HBx, EBNA 단백질 (예를 들어, EBNA3 A, EBNA3 C, 및 EBNA 2), v-사이클린, LANA1, LANA2, LMP-1, k-bZIP, RTA, KSHV K8, 및 그의 단편을 포함하지만 이에 제한되지 않는 바이러스성 종양단백질일 수 있다. 문헌 [Ahuja, Richa, *et al.*, *Curr. Sci.*, 2014]을 참조한다.

[0354] **제조 물품 및 키트**

[0355] 본 발명의 일부 실시양태에서, 표적 항원-양성 질환 예컨대 암 (예를 들어 부신피질 암종, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 식도암, 교모세포종, 신경교종, 간세포성 암종, 두경부암, 신장암, 폐암, 흑색종, 중피종, 다발성 골수종, 췌장암, 크롬친화세포종, 형질세포종, 신경모세포종, 난소암, 전립선암, 육종, 위암, 자궁암 또는 갑상선암) 또는 바이러스성 감염 (예를 들어 CMV, EBV, HBV, KSHV, HPV, MCV, HTLV-1, HIV-1, 또는 HCV에 의한 감염)의 치료에 유용한 물질을 함유하는 제조 물품이 제공된다. 제조 물품은 용기, 및 용기 상에 있거나 용기와 연합된 표지 또는 포장 삽입물을 포함할 수 있다. 적절한 용기는, 예를 들어, 병, 바이알, 주사기 등을 포함한다. 용기는 다양한 물질 예컨대 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 일반적으로, 용기는 본원에 기술된 질환 또는 장애를 치료하는데 효과적인 조성물을 보유하고, 무균성 접근 포트가 있을 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘이 관통할 수 있는 마개가 있는 바이알 또는 정맥내 용액 백일 수 있다). 조성물 내의 적어도 하나의 활성 작용제는 본 발명의 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포이다. 표지 또는 포장 삽입물은 조성물이 특정한 병태의 치료에 사용된다는 것을 가리킨다. 표지 또는 포장 삽입물은 abTCR 이펙터 세포 조성물을 환자에게 투여하기 위한 지침서를 추가로 포함할 것이다. 본원에 기술된 조합 요법을 포함하는 제조 물품 및 키트가 또한 구상된다.

[0356] 포장 삽입물은 치료 제품의 상업용 포장에 관례적으로 포함되는, 이러한 치료 제품의 사용에 관련된 적응증, 용법, 투여량, 투여, 금기 및/또는 경고에 관한 정보를 함유하는 지침서를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 포장 삽입물은 조성물이 표적 항원-양성 암 (예컨대 부신피질 암종, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 식도암, 교모세포종, 신경교종, 간세포성 암종, 두경부암, 신장암, 폐암, 흑색종, 중피종, 다발성 골수종, 췌장암, 크롬친화세포종, 형질세포종, 신경모세포종, 난소암, 전립선암, 육종, 위암, 자궁암 또는 갑상선암)을 치료하는데 사용된다는 것을 가리킨다. 다른 실시양태에서, 포장 삽입물은 조성물이 표적 항원-양성 바이러스성 감염 (예를 들어 CMV, EBV, HBV, KSHV, HPV, MCV, HTLV-1, HIV-1, 또는 HCV에 의한 감염)을 치료하는데 사용된다는 것을 가리킨다.

[0357] 추가적으로, 제조 물품은 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 주사용 정균수 (BWFI), 포스페이트-완충 염수, 링거 용액 및 덱스트로스 용액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 포함하여 상업적 관점 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0358] 다양한 목적, 예를 들어, 본원에 기술된 표적 항원-양성 질환 또는 장애의 치료에 유용한 키트가 또한 제공되며, 이는 임의적으로 제조 물품과 조합된다. 본 발명의 키트는 abTCR 이펙터 세포 조성물을 포함하는 하나 이상의 용기 (또는 단위 투여량 형태 및/또는 제조 물품)를 포함하고, 일부 실시양태에서, 또 다른 작용제 (예컨대 본원에 기술된 작용제) 및/또는 임의의 본원에 기술된 방법에 따라 사용하기 위한 지침서를 추가로 포함한다. 키트는 치료에 적절한 개체의 선택에 대한 설명을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 키트에서 공급되는 지침서는 전형적으로 표지 또는 포장 삽입물 상의 서면 지침서 (예를 들어, 키트 내에 포함되는 종이 시트)이지만, 기계에서 판독가능한 지침서 (예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크 상에 보유된 지침서)가 또한 허용가능하다.

[0359] 예를 들어, 일부 실시양태에서, 키트는 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포를 포함하는 조성물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포를 포함하는 조성물, 및 b) 유효량의 적어도 하나의 다른 작용제로, MHC 단백질의 발현을 증가시키고/거나 MHC 단백질에 의한 펩티드의 표

면 제시를 강화하는 작용제 (예를 들어, IFNɣ, IFNβ, IFNα, 또는 Hsp90 억제제)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포를 포함하는 조성물, 및 b) abTCR 이펙터 세포 조성물을 표적 항원-양성 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 위해 개체에게 투여하기 위한 지침서를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포를 포함하는 조성물, b) 유효량의 적어도 하나의 다른 작용제로, MHC 단백질의 발현을 증가시키고/거나 MHC 단백질에 의한 펩티드의 표면 제시를 강화하는 작용제 (예를 들어, IFNɣ, IFNβ, IFNα, 또는 Hsp90 억제제), 및 c) abTCR 이펙터 세포 조성물 및 다른 작용제(들)을 표적 항원-양성 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 위해 개체에게 투여하기 위한 지침서를 포함한다. abTCR 이펙터 세포 조성물 및 다른 작용제(들)는 별개의 용기 내에 또는 단일 용기 내에 존재할 수 있다. 예를 들어, 키트는 1개의 독특한 조성물, 또는 하나의 조성물은 abTCR 이펙터 세포를 포함하고 또 다른 조성물은 다른 작용제를 포함하는 2개 이상의 조성물을 포함할 수 있다.

[0360] 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 포함하는 조성물, 및 b) abTCR을 이펙터 세포 (예컨대 개체로부터 유래된 이펙터 세포, 예를 들어, T 세포 또는 천연 킬러 세포)와 조합하여 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포를 포함하는 조성물을 형성시키고, abTCR 이펙터 세포 조성물을 표적 항원-양성 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 위해 개체에게 투여하기 위한 지침서를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 포함하는 조성물, 및 b) 이펙터 세포 (예컨대 세포독성 세포)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 포함하는 조성물, b) 이펙터 세포 (예컨대 세포독성 세포), 및 c) abTCR을 이펙터 세포와 조합하여 abTCR을 표면 상에 제시하는 이펙터 세포를 포함하는 조성물을 형성시키고, abTCR 이펙터 세포 조성물을 표적 항원-양성 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 위해 개체에게 투여하기 위한 지침서를 포함한다.

[0361] 일부 실시양태에서, 키트는 abTCR을 코딩하는 핵산 (또는 핵산 세트)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 코딩하는 핵산 (또는 핵산 세트), 및 b) 핵산 (또는 핵산 세트)을 발현시키기 위한 숙주 세포 (예컨대 이펙터 세포)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 코딩하는 핵산 (또는 핵산 세트), 및 b) i) abTCR을 숙주 세포 (예컨대 이펙터 세포, 예를 들어, T 세포)에서 발현시키고, ii) abTCR을 발현하는 숙주 세포를 포함하는 조성물을 제조하고, iii) abTCR을 발현하는 숙주 세포를 포함하는 조성물을 표적 항원-양성 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 위해 개체에게 투여하기 위한 지침서를 포함한다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포는 개체로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 키트는 a) abTCR을 코딩하는 핵산 (또는 핵산 세트), b) 핵산 (또는 핵산 세트)을 발현시키기 위한 숙주 세포 (예컨대 이펙터 세포), 및 c) i) abTCR을 숙주 세포에서 발현시키고, ii) abTCR을 발현하는 숙주 세포를 포함하는 조성물을 제조하고, iii) abTCR을 발현하는 숙주 세포를 포함하는 조성물을 표적 항원-양성 질환 (예컨대 암 또는 바이러스성 감염)의 치료를 위해 개체에게 투여하기 위한 지침서를 포함한다.

[0362] 본 발명의 키트는 적절한 포장재 내에 있다. 적절한 포장재는 바이알, 병, 단지, 가요성 포장재 (예를 들어, 밀봉된 마일라(Mylar) 또는 플라스틱 백) 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 키트는 추가적인 성분 예컨대 완충제 및 해석 정보를 임의적으로 제공할 수 있다. 따라서 본 출원은 바이알 (예컨대 밀봉 바이알), 병, 단지, 가요성 포장재 등을 포함하는 제조 물품을 또한 제공한다.

[0363] abTCR 이펙터 세포 조성물의 사용에 관련된 지침서는 의도되는 치료를 위한 투여량, 투약 일정 및 투여 경로에 관한 정보를 일반적으로 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 포장 (예를 들어, 다용량 포장) 또는 서브유닛 용량일 수 있다. 예를 들어, 장기간, 예컨대 1주, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 3개월, 4개월, 5개월, 7개월, 8개월, 9개월, 또는 그 초과 중 임의의 것 동안 개체의 효과적인 치료를 제공하기 위한 충분한 투여량의 본원에 개시된 바와 같은 abTCR 이펙터 세포 조성물을 함유하는 키트가 제공될 수 있다. 키트는 약국, 예를 들어, 병원 약국 및 조제 약국에서의 보관 및 사용에 충분한 양으로 포장된, 다중 단위 용량의 abTCR 및 제약 조성물 및 사용 지침서를 또한 포함할 수 있다.

[0364] 관련 분야의 기술자는 본 발명의 범주 및 취지 내에서 여러 실시양태가 가능하다는 것을 인지할 것이다. 이제 본 발명이 하기의 비제한적인 예를 참조로 더욱 상세하게 기술될 것이다. 하기의 실시예는 본 발명을 추가로 설명하지만, 당연히, 어떠한 방식으로도 그의 범주를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0365] 예시적인 실시양태

[0366] 실시양태 1. 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체-T 세포 수용체 (TCR) 키메라 분자 (abTCR)이며,

[0367] a) V_H 및 C_H1 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 T 세포 수용체 도메인 (TCRD)을 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및

[0368] b) V_L 및 C_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

[0369] 를 포함하며,

[0370] 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 및 C_H1 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 및 C_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모듈을 형성하고,

[0371] 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈(TCRM)을 형성하는 것인,

[0372] abTCR.

[0373] 실시양태 2. 실시양태 1에 있어서, 항원-결합 모듈이 C_H1 도메인 내의 잔기와 C_L 도메인 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 포함하는 것인 abTCR.

[0374] 실시양태 3. 실시양태 1 또는 2에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄가 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커를 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0375] 실시양태 4. 실시양태 1-3 중 어느 하나에 있어서, 제2 폴리펩티드 쇄가 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0376] 실시양태 5. 실시양태 3 또는 4에 있어서, 제1 펩티드 링커 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, 아미노산 약 5개 내지 약 50개의 길이인 abTCR.

[0377] 실시양태 6. 실시양태 1-5 중 어느 하나에 있어서, 표적 항원이 세포 표면 항원인 abTCR.

[0378] 실시양태 7. 실시양태 6에 있어서, 세포 표면 항원이 단백질, 탄수화물, 및 지질로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 abTCR.

[0379] 실시양태 8. 실시양태 7에 있어서, 세포 표면 항원이 CD19, ROR1, ROR2, BCMA, GPRC5D, 또는 FCRL5인 abTCR.

[0380] 실시양태 9. 실시양태 1-5 중 어느 하나에 있어서, 표적 항원이 펩티드 및 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 단백질을 포함하는 복합체인 abTCR.

[0381] 실시양태 10. 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR이며,

[0382] a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및

[0383] b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

[0384] 를 포함하며,

[0385] 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모듈을 형성하고,

[0386] 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈(TCRM)을 형성하고,

[0387] 여기서 표적 항원은 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체인,

[0388] abTCR.

[0389] 실시양태 11. 실시양태 10에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄가 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커를 추가로 포함하고, 제2 폴리펩티드 쇄가 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0390] 실시양태 12. 실시양태 11에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, 이뮤노글로불린 또는 T 세포 수용체 서브유닛으로부터의 불변 도메인 또는 그의 단편을 포함하는 것인 abTCR.

[0391] 실시양태 13. 실시양태 12에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, CH1, CH2, CH3, CH4 또는 CL 항체 도메인, 또는 그의 단편을 포함하는 것인 abTCR.

[0392] 실시양태 14. 실시양태 12에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, Cα, Cβ, Cɣ, 또는 Cδ TCR 도메인, 또는 그의 단편을 포함하는 것인 abTCR.

[0393] 실시양태 15. 실시양태 1-14 중 어느 하나에 있어서, 제1 TCRD가 제1 막횡단 도메인의 N-말단에 TCR 서브유닛의 제1 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0394] 실시양태 16. 실시양태 1-15 중 어느 하나에 있어서, 제2 TCRD가 제2 막횡단 도메인의 N-말단에 TCR 서브유닛의 제2 연결 펩티드 또는 그의 단편을 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0395] 실시양태 17. 실시양태 15 또는 16에 있어서, TCRM이 제1 연결 펩티드 내의 잔기와 제2 연결 펩티드 내의 잔기 사이의 디술피드 결합을 포함하는 것인 abTCR.

[0396] 실시양태 18. 실시양태 1-17 중 어느 하나에 있어서, 제1 TCRD가 제1 막횡단 도메인의 C-말단에 TCR 세포내 서열을 포함하는 제1 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0397] 실시양태 19. 실시양태 1-18 중 어느 하나에 있어서, 제2 TCRD가 제2 막횡단 도메인의 C-말단에 TCR 세포내 서열을 포함하는 제2 TCR 세포내 도메인을 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0398] 실시양태 20. 실시양태 1-19 중 어느 하나에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄가 제1 막횡단 도메인의 C-말단에 공동-자극성 세포내 신호전달 서열을 포함하는 제1 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0399] 실시양태 21. 실시양태 1-20 중 어느 하나에 있어서, 제2 폴리펩티드 쇄가 제2 막횡단 도메인의 C-말단에 공동-자극성 세포내 신호전달 서열을 포함하는 제2 액세서리 세포내 도메인을 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0400] 실시양태 22. 실시양태 1-21 중 어느 하나에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄가 제1 항원-결합 도메인의 N-말단에 제1 신호전달 펩티드를 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0401] 실시양태 23. 실시양태 1-22 중 어느 하나에 있어서, 제2 폴리펩티드 쇄가 제2 항원-결합 도메인의 N-말단에 제2 신호전달 펩티드를 추가로 포함하는 것인 abTCR.

[0402] 실시양태 24. 실시양태 9-23 중 어느 하나에 있어서, 표적 항원 복합체 내의 펩티드가 WT-1, AFP, HPV16-E7, NY-ESO-1, PRAME, EBV-LMP2A, HIV-1, 및 PSA로 이루어진 군으로부터 선택된 단백질로부터 유래되는 것인 abTCR.

[0403] 실시양태 25. 실시양태 1-24 중 어느 하나에 있어서, 분자가 약 0.1 pM 내지 약 500 nM의 평형 해리 상수 (K_d)로 표적 항원에 결합하는 것인 abTCR.

[0404] 실시양태 26. 실시양태 1-25 중 어느 하나에 있어서, TCR-연관 신호전달 모듈이 CD3δε, CD3ɣε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 abTCR.

[0405] 실시양태 27. 실시양태 1-26 중 어느 하나에 있어서, 제1 TCR 서브유닛이 TCR α 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛이 TCR β 쇄인 abTCR.

[0406] 실시양태 28. 실시양태 1-26 중 어느 하나에 있어서, 제1 TCR 서브유닛이 TCR β 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛이 TCR α 쇄인 abTCR.

[0407] 실시양태 29. 실시양태 1-26 중 어느 하나에 있어서, 제1 TCR 서브유닛이 TCR ɣ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛이 TCR δ 쇄인 abTCR.

[0408] 실시양태 30. 실시양태 1-26 중 어느 하나에 있어서, 제1 TCR 서브유닛이 TCR δ 쇄이고, 제2 TCR 서브유닛이 TCR ɣ 쇄인 abTCR.

[0409] 실시양태 31. 실시양태 1-30 중 어느 하나의 abTCR의 제1 및 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 핵산(들).

[0410] 실시양태 32. 실시양태 1-30 중 어느 하나의 abTCR, 및 CD3δε, CD3ɣε, 및 ζζ로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 포함하는 복합체.

[0411] 실시양태 33. 실시양태 32에 있어서, 복합체가 abTCR 및 CD3δε, CD3ɣε, 및 ζζ를 포함하는 팔량체인 복합체.

[0412] 실시양태 34. 실시양태 1-30 중 어느 하나의 abTCR 또는 실시양태 32 또는 33의 복합체를 표면 상에 제시하는 이펙터 세포.

[0413] 실시양태 35. 실시양태 31의 핵산(들)을 포함하는 이펙터 세포.

[0414] 실시양태 36. 실시양태 34 또는 35에 있어서, 이펙터 세포가 제1 TCR 서브유닛 및/또는 제2 TCR 서브유닛을 발현하지 않는 것인 이펙터 세포.

[0415] 실시양태 37. 실시양태 36에 있어서,

[0416] a) 제1 TCR 서브유닛이 TCRα이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRβ이거나; 또는

[0417] b) 제1 TCR 서브유닛이 TCRβ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRα이고;

[0418] 이펙터 세포가 γδ T 세포인

[0419] 이펙터 세포.

[0420] 실시양태 38. 실시양태 36에 있어서,

[0421] a) 제1 TCR 서브유닛이 TCRγ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRδ이거나; 또는

[0422] b) 제1 TCR 서브유닛이 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRγ이고;

[0423] 이펙터 세포가 αβ T 세포인

[0424] 이펙터 세포.

[0425] 실시양태 39. 실시양태 34-36 중 어느 하나에 있어서, 이펙터 세포가, 제1 내인성 TCR 서브유닛 및/또는 제2 내인성 TCR 서브유닛의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 것인 이펙터 세포.

[0426] 실시양태 40. 실시양태 39에 있어서,

[0427] a) 제1 TCR 서브유닛이 TCRα이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRβ이거나; 또는

[0428] b) 제1 TCR 서브유닛이 TCRβ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRα이고;

[0429] 이펙터 세포가 TCRα 및/또는 TCRβ의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 αβ T 세포인

[0430] 이펙터 세포.

[0431] 실시양태 41. 실시양태 39에 있어서,

[0432] a) 제1 TCR 서브유닛이 TCRγ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRδ이거나; 또는

[0433] b) 제1 TCR 서브유닛이 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRγ이고;

[0434] 이펙터 세포가 TCRγ 및/또는 TCRδ의 발현을 차단하거나 또는 감소시키도록 변형된 γδ T 세포인

[0435] 이펙터 세포.

[0436] 실시양태 42. 실시양태 34-41 중 어느 하나에 있어서, 이펙터 세포가 $CD3^+$ 세포인 이펙터 세포.

[0437] 실시양태 43. 실시양태 42에 있어서, $CD3^+$ 세포가 세포독성 T 세포, 헬퍼 T 세포, 천연 킬러 T 세포, 및 억제인자 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 이펙터 세포.

[0438] 실시양태 44. 실시양태 34-43 중 어느 하나에 있어서, a) 제1 프로모터의 제어 하의 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열을 포함하는 제1 벡터 및 b) 제2 프로모터의 제어 하의 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하는 제2 벡터를 포함하는 이펙터 세포.

[0439] 실시양태 45. 실시양태 34-43 중 어느 하나에 있어서, a) 제1 프로모터의 제어 하의 abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열; 및 b) 제2 프로모터의 제어 하의 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하는 벡터를 포함하는 이펙터 세포.

[0440] 실시양태 46. 실시양태 34-43 중 어느 하나에 있어서, a) abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열 및 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 포함하는 벡터를 포함하며, 여기서 제1 및 제2

핵산 서열이 단일 프로모터의 제어 하에 있는 것인 이펙터 세포.

[0441] 실시양태 47. 실시양태 34-45 중 어느 하나에 있어서, abTCR의 제1 폴리펩티드 쇄의 발현이 abTCR의 제2 폴리펩티드 쇄의 발현과 2배 초과로 차이나는 것인 이펙터 세포.

[0442] 실시양태 48. 표적 세포를 실시양태 34-47 중 어느 하나의 이펙터 세포와 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 abTCR은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 것인, 표적 항원을 제시하는 표적 세포를 사멸시키는 방법.

[0443] 실시양태 49. 표적 세포를

[0444] a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및

[0445] b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

[0446] 를 포함하는 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 포함하는 이펙터 αβ T 세포와 접촉시키는 것을 포함하며,

[0447] 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모듈을 형성하고,

[0448] 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈(TCRM)을 형성하고,

[0449] 여기서 제1 TCR 서브유닛은 TCRγ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRδ이거나, 또는 제1 TCR 서브유닛이 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛이 TCRγ인,

[0450] 표적 항원을 제시하는 표적 세포를 사멸시키는 방법.

[0451] 실시양태 50. 실시양태 49에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄가 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커를 추가로 포함하고, 제2 폴리펩티드 쇄가 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함하는 것인 방법.

[0452] 실시양태 51. 실시양태 50에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, 이뮤노글로불린 또는 T 세포 수용체 서브유닛으로부터의 불변 도메인 또는 그의 단편을 포함하는 것인 방법.

[0453] 실시양태 52. 실시양태 51에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, CH1, CH2, CH3, CH4 또는 CL 항체 도메인, 또는 그의 단편을 포함하는 것인 방법.

[0454] 실시양태 53. 실시양태 51에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, Cα, Cβ, Cγ, 또는 Cδ TCR 도메인, 또는 그의 단편을 포함하는 것인 방법.

[0455] 실시양태 54. 실시양태 48-53 중 어느 하나에 있어서, 접촉이 생체내에서 이루어지는 것인 방법.

[0456] 실시양태 55. 실시양태 48-53 중 어느 하나에 있어서, 접촉이 시험관내에서 이루어지는 것인 방법.

[0457] 실시양태 56. 실시양태 1-30 중 어느 하나의 abTCR, 실시양태 31의 핵산(들), 또는 실시양태 34-47 중 어느 하나의 이펙터 세포, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

[0458] 실시양태 57. 개체에게 유효량의 실시양태 51의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 표적 항원-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환을 치료하는 방법.

[0459] 실시양태 58. a) V_H 항체 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 도메인, 및 제1 TCR 서브유닛의 제1 막횡단 도메인을 포함하는 제1 TCRD를 포함하는 제1 폴리펩티드 쇄; 및

[0460] b) V_L 항체 도메인을 포함하는 제2 항원-결합 도메인, 및 제2 TCR 서브유닛의 제2 막횡단 도메인을 포함하는 제2 TCRD를 포함하는 제2 폴리펩티드 쇄

[0461] 를 포함하는 표적 항원에 특이적으로 결합하는 abTCR을 포함하는 이펙터 αβ T 세포를 포함하는 조성물을 유효량으로 개체에게 투여하는 것을 포함하며,

[0462] 여기서 제1 항원-결합 도메인의 V_H 도메인 및 제2 항원-결합 도메인의 V_L 도메인은 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모듈을 형성하고,

[0463] 여기서 제1 TCRD 및 제2 TCRD는 적어도 하나의 TCR-연관 신호전달 모듈을 동원할 수 있는 T 세포 수용체 모듈(TCRM)을 형성하고,

[0464] 여기서 제1 TCR 서브유닛은 TCRγ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRδ이거나, 또는 제1 TCR 서브유닛은 TCRδ이고 제2 TCR 서브유닛은 TCRγ인,

[0465] 표적 항원-연관 질환의 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원-연관 질환을 치료하는 방법.

[0466] 실시양태 59. 실시양태 58에 있어서, 제1 폴리펩티드 쇄가 제1 항원-결합 도메인과 제1 TCRD 사이의 제1 펩티드 링커를 추가로 포함하고, 제2 폴리펩티드 쇄가 제2 항원-결합 도메인과 제2 TCRD 사이의 제2 펩티드 링커를 추가로 포함하는 것인 방법.

[0467] 실시양태 60. 실시양태 59에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, 이뮤노글로불린 또는 T 세포 수용체 서브유닛으로부터의 불변 도메인 또는 그의 단편을 포함하는 것인 방법.

[0468] 실시양태 61. 실시양태 60에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, CH1, CH2, CH3, CH4 또는 CL 항체 도메인, 또는 그의 단편을 포함하는 것인 방법.

[0469] 실시양태 62. 실시양태 60에 있어서, 제1 및/또는 제2 펩티드 링커가, 개별적으로, Cα, Cβ, Cγ, 또는 Cδ TCR 도메인, 또는 그의 단편을 포함하는 것인 방법.

[0470] 실시양태 63. 실시양태 57-62 중 어느 하나에 있어서, 표적 항원-연관 질환이 암인 방법.

[0471] 실시양태 64. 실시양태 63에 있어서, 암이 부신피질 암종, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 담관암종, 결장직장암, 식도암, 교모세포종, 신경교종, 간세포성 암종, 두경부암, 신장암, 백혈병, 림프종, 폐암, 흑색종, 중피종, 다발성 골수종, 췌장암, 크롬친화세포종, 형질세포종, 신경모세포종, 난소암, 전립선암, 육종, 위암, 자궁암 및 갑상선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

[0472] 실시양태 65. 실시양태 57-62 중 어느 하나에 있어서, 표적 항원-연관 질환이 바이러스성 감염인 방법.

[0473] 실시양태 66. 실시양태 65에 있어서, 바이러스성 감염이 시토메갈로바이러스 (CMV), 엡스타인-바르 바이러스 (EBV), B형 간염 바이러스 (HBV), 카포시 육종 연관 헤르페스바이러스 (KSHV), 인간 유두종 바이러스 (HPV), 몰루스쿰 콘타기오숨 바이러스 (MCV), 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1 (HTLV-1), HIV (인간 면역결핍 바이러스), 및 C형 간염 바이러스 (HCV)로 이루어진 군으로부터 선택된 바이러스에 의해 야기되는 것인 방법.

[0474] 실시양태 67. a) 불균질 세포 집단을 고체 지지체에 고정된 표적 항원과 접촉시켜, 고체 지지체 상의 표적 항원에 결합된 이펙터 세포의 복합체를 형성시키는 단계; 및

[0475] b) 불균질 세포 집단으로부터 복합체를 분리함으로써, 이펙터 세포에 대해 강화된 세포 집단을 생성시키는 단계

[0476] 를 포함하는, 실시양태 34-47 중 어느 하나의 이펙터 세포에 대해 불균질 세포 집단을 강화하는 방법.

[0477] 실시양태 68. 실시양태 1-30 중 어느 하나에 따른 복수의 abTCR을 코딩하는 서열을 포함하는 핵산 라이브러리.

[0478] 실시양태 69. a) 복수의 $CD3^+$ 세포의 표면 상에서 abTCR이 발현되도록, 복수의 $CD3^+$ 세포 내로 핵산 라이브러리를 도입하는 단계;

[0479] b) 복수의 $CD3^+$ 세포를 표지된 표적 항원과 함께 인큐베이션하는 단계;

[0480] c) 표지된 표적 항원과 결합된 $CD3^+$ 세포를 수집하는 단계; 및

[0481] d) 단계 c)에서 수집된 세포로부터 abTCR을 코딩하는 서열을 단리함으로써, 표적 항원에 대해 특이적인 abTCR을 확인하는 단계

[0482] 를 포함하는, 표적 항원에 대해 특이적인 abTCR을 코딩하는 서열에 대해 실시양태 68의 핵산 라이브러리를 스크리닝하는 방법.

[0483] **실시예**

[0484] **물질 및 방법**

[0485] 세포 샘플, 세포주, 및 항체

[0486] 세포주 HepG2 (ATCC HB-8065; HLA-A2+, AFP^+), SK-HEP-1 (ATCC HTB-52; HLA-A2+, AFP^-), Raji (ATCC CCL-86; $CD19^+$), CA46 (ATCC CRL-1648; $CD19^+$), Jurkat (ATCC CRL-2899, $CD19^-$), J.RT3-T3.5 (ATCC TIB-153), Jeko-1 (ATCC CRL-3006; $CD19^+$), THP-1 (ATCC TIB-202, $CD19^-$), 다우디(Daudi) (ATCC CCL-213; $CD19^+$), HeLa (ATCC CCL-2), MDA-MB-231 (ATCC HTB-26) 및 MCF-7 (ATCC HTB-22)을 아메리칸 타입 컬처 컬렉션으로부터 수득하였다. Jurkat은 T 세포 백혈병으로부터 유래된 인간 T 림프구 세포주이다. J.RT3-T3.5는 T 세포 수용체 β 쇄가 결여된 Jurkat 세포로부터 유래된 돌연변이체 세포주이다. Raji는 CD19를 발현하는 버킷 림프종 세포주이다. Raji-CD19 녹아웃 (Raji-CD19KO) 세포주는 CRISPR 기술에 의해 생성되었다. 3개의 상이한 가이드 서열을 디자인하여 Raji 세포 내의 CD19를 표적화하였다. CRISPR-Cas9 벡터를 오리진(Origene)에서 구입하였고, 각각의 가이드를 별개로 pCas-Guide 벡터 내로 클로닝하였다. 전기천공 3일 후, 각각의 가이드에 의한 녹아웃 효율을 유동 세포측정법으로 측정하고, 최상의 CD19-녹아웃 풀을 제한 희석에 의해 클론 선택용으로 선택하였다. 선택된 클론이 시퀀싱에 의해 완전한 CD19 녹아웃으로서 확인되었다. 또 다른 대조군 세포주인 SK-HEP-1-AFP-MG가 SK-HEP-1 세포주에 AFP 펩티드 AFP158 (서열식별번호: 53)을 발현하는 미니유전자 카세트를 형질도입함으로써 생성되었으며, 이는 AFP158/HLA-A*02:01 복합체의 높은 수준의 세포 표면 발현을 초래한다. 모든 세포주를 10% FBS 및 2 mM 글루타민이 보충된 RPMI 1640 또는 DMEM에서 37℃/5% CO_2에서 배양하였다.

[0487] FITC 또는 APC에 접합된 인간 HLA-A02 (클론 BB7.2)에 대한 모노클로날 Ab, 및 FITC 또는 APC에 접합된 그의 아이소형 대조군 마우스 IgG 2b, 인간 또는 마우스 CD3에 대한 항체, 인간 T 세포 수용체의 다양한 서브유닛, 3xFlag 태그, HA 태그, PE 또는 FITC와 접합된 염소 F(ab)2 항-인간 IgG, 및 형광-접합 염소 F(ab')2 항-마우스 Ig (인비트로젠(Invitrogen))를 구입하였다. AFP158/HLA-A*02:01-특이적 항체에 대한 항-이디오타입 항체가 유레카 쎄라퓨틱스(Eureka Therapeutics)에서 사내에서 개발되어 생산되었다. 유동 세포측정법 데이터를 BD FACSCanto II를 사용하여 수집하였고, 플로우조(FlowJo) 소프트웨어 패키지를 사용하여 분석하였다.

[0488] 모든 펩티드를 구입하였으며, 이는 엘림 바이오파마(Elim Biopharma)에서 합성되었다. 펩티드는 >90% 순수하였다. 펩티드를 DMSO에 용해시키거나 또는 염수에 10 mg/mL로 희석하고, -80℃에서 동결시켰다. 펩티드와 재조합 HLA-A*02:01 및 베타-2-마이크로글로불린 (β2M)를 다시 폴딩시킴으로써 비오틴화 단일쇄 AFP158/HLA-A*02:01 및 대조군 펩티드/HLA-A*02:01 복합체 단량체를 생성시켰다. BirA 효소에 의해 HLA-A*02:01 세포외 도메인 (ECD)의 C-말단 단부에 연결된 BSP 펩티드를 통해 단량체를 비오틴화시켰다. 형광-표지 스트렙타비딘을 비오틴화 펩티드/HLA-A*02:01 복합체 단량체와 혼합하여 형광-표지 펩티드/HLA-A*02:01 사량체를 형성시켰다.

[0489] 예를 들어, 293T 세포를 키메라 구축물을 코딩하는 벡터로 형질감염시킴으로써, 인간 CD19-특이적 또는 AFP158/HLA-A*02:01-특이적 CAR 또는 abTCR을 함유하는 렌티바이러스를 생산하였다. 1차 인간 T-세포를 100 U/ml의 인터루킨-2 (IL-2)의 존재 하에서의 CD3/CD28 비드 (다이나비즈®, 인비트로젠)로의 1일 자극 후에 형질도입에 사용하였다. 농축된 렌티바이러스를 96시간 동안 레트로넥틴(Retronectin) (타카라(Takara))-코팅 6-웰 플레이트 내의 T-세포에 적용하였다. 비오틴화 AFP158/HLA-A*02:01 사량체 ("AFP158 사량체")와 PE-접합 스트렙타비딘 또는 항-myc 항체를 각각 사용하여, 유동 세포측정법으로 항-AFP 및 항-CD19 키메라 구축물의 형질도입 효율을 평가하였다. 반복 유동 세포측정법 분석을 제5일에, 그리고 그 후 3-4일마다 행하였다.

[0490] 세포주에 abTCR 구축물의 2개의 서브유닛을 코딩하는 1개 또는 2개의 벡터를 형질도입하였다. 형질도입 5일 후, 항-HA (항-HA 태그 항체 - ChIP 등급, 앱캠(Abcam)) 또는 항-Flag 항체 (토끼에서 생산된 항-Flag 항체, 시그마(Sigma))를 사용하는 웨스턴 블롯용으로 세포 용해물을 생성시켰다.

[0491] 종양 세포독성을 사이톡스(Cytox) 96 비-방사성 LDH 세포독성 검정법 (프로메가(Promega))에 의해 검정하였다. CD14, CD16, CD19, CD20, CD36, CD56, CD66b, CD123, 글리코포린 A 발현 세포를 음성적으로 고갈시키는 이지셉(EasySep) 인간 T 세포 단리 키트 (스템셀 테크놀로지스(StemCell Technologies))를 사용하여 PBMC-강화 전혈로부터 $CD3^+$ T 세포를 제조하였다. 예를 들어, 제조사의 프로토콜에 따라 CD3/CD28 다이나비즈 (인비트로젠)으로, 인간 T 세포를 활성화 및 확장시켰다. 활성화된 T 세포 (ATC)를 10% FBS가 있는 RPMI1640 배지 + 100 U/ml IL-2에서 배양하여 유지시키고, 제7일-제14일에 사용하였다. 활성화된 T 세포 (이펙터 세포) 및 표적 세포를 다양한 이펙터-대-표적 비 (예를 들어, 2.5:1 또는 5:1)로 16시간 동안 공동-배양하고, 세포독성에 대해

검정하였다.

[0492] **실시예 1. 항체-T 세포 수용체 (abTCR) 키메라 디자인**

[0493] 구상되는 변이를 포함하여, 4개의 상이한 항체-T 세포 수용체 키메라 구축물 (abTCR) 디자인 (abTCR-3, abTCR-4, abTCR-5, 및 abTCR-6)이 도 1a 및 1b에서 제시된다. 이러한 디자인에서, 항체 Fab 단편의 중쇄 (IgV_H-IgC_H1) 및 경쇄 (IgV_L-IgC_L) 도메인이 가변 및 불변 도메인이 결여되고 그의 연결 펩티드 (불변 도메인 이후의 영역) 전체 또는 일부분을 포함하는 T 세포 수용체 α/β 쇄 또는 γ/δ 쇄 단편의 아미노 말단에 융합되어, T 세포의 표면 상에서 발현될 수 있는 키메라 항체-TCR 이종이량체를 형성한다. 각각의 abTCR 디자인 내의 IgV_H 및 IgV_L 도메인이 항원-결합 특이성을 결정하고, IgC_H1 및 IgC_L과 함께, Fab 단편을 닮은 구조를 형성한다. 천연 TCR에서는, Vα/Vβ 또는 Vδ/Vγ 도메인이 TCR의 항원-결합 도메인을 형성한다. 이러한 디자인은 Vα-Cα/Vβ-Cβ 또는 Vδ-Cδ/Vγ-Cγ 영역을 IgV_H-IgC_H1 또는 IgV_L-IgC_L로 교체하고, 따라서 항체의 결합 특이성을 구축물에 부여하는 한편, 구축물이 천연 TCR 복합체, 예컨대 CD3δε, CD3γε 및 CD3ζζ 내의 액세서리 분자와 회합하는 능력을 유지시킨다. 이러한 디자인은 항체의 가변 도메인이 TCR 불변 영역에 연결되어 Vα/Vβ 영역만을 IgV_H/IgV_L로 교체하는 문헌 [Gross and Eshhar, Endowing T cells with antibody specificity using chimeric T cell receptors, FASEB J. 1992 (15):3370]에 기술된 cTCR 디자인과 별개이다.

[0494] 다른 abTCR 디자인에서, 펩티드 및 MHC 단백질을 포함하는 복합체에 대해 특이적인 항체 Fv 단편의 중쇄 (IgV_H) 및 경쇄 (IgV_L) 도메인 (MHC-제한 항체 모이어티)이 가변 도메인이 결여되고 그의 연결 펩티드 (불변 도메인 이후의 영역) 전체 또는 일부분을 포함하는 T 세포 수용체 α/β 쇄 또는 γ/δ 쇄 단편의 아미노 말단에 융합된다. 이러한 abTCR 디자인 중 일부에서, T 세포 수용체 α/β 쇄 또는 γ/δ 쇄 단편은 TCR 불변 도메인 전체 또는 일부분을 포함한다. 한 이러한 디자인인 abTCR-7에서, IgV_H가 불변 도메인을 포함하는 TCRδ 단편에 융합되고, IgV_L이 불변 도메인을 포함하는 TCRγ 단편에 융합된다. 이러한 디자인은 항체 가변 도메인이 비-MHC-제한 결합에 대한 것인 문헌 [Gross and Eshhar, 상기 문헌]에 기술된 cTCR 디자인과 별개이다.

[0495] abTCR-3 (IgV_H-IgC_H1-TCRα/IgV_L-IgC_L-TCRβ) 디자인에서는, 항체 중쇄의 가변 도메인 및 제1 불변 도메인 (IgV_H-IgC_H1)이 Vα-Cα 영역 이후의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 경계를 이루거나 또는 그의 내부인 위치까지의 TCRα 쇄의 아미노 말단 부분을 교체한다. 상응하는 항체 경쇄의 가변 도메인 및 불변 도메인 (IgV_L-IgC_L)이 Vβ-Cβ 영역 이후의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 경계를 이루거나 또는 그의 내부인 위치까지의 TCRβ 쇄의 아미노 말단 부분을 교체한다. abTCR-4 (IgV_H-IgC_H1-TCRβ/IgV_L-IgC_L-TCRα) 디자인에서는, 항체 중쇄의 가변 도메인 및 제1 불변 도메인 (IgV_H-IgC_H1)이 Vβ-Cβ 영역 이후의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 경계를 이루거나 또는 그의 내부인 위치까지의 TCRβ 쇄의 아미노 말단 부분을 교체한다. 상응하는 항체 경쇄의 가변 도메인 및 불변 도메인 (IgV_L-IgC_L)이 Vα-Cα 영역 이후의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 경계를 이루거나 또는 그의 내부인 위치까지의 TCRα 쇄의 아미노 말단 부분을 교체한다. 키메라 α 및 β 쇄가 1개는 IgC_L과 IgC_H1 도메인 사이에 있고, 1개는 TCRα 및 β 쇄 내의 연결 펩티드들 사이에 있는 2개의 디술피드 결합을 통해 이량체화된다. 3x-Flag 태그가 TCRα 쇄 세포질 영역의 C-말단에 임의적으로 융합되고, HA 태그가 TCRβ 쇄 세포질 영역의 C-말단에 임의적으로 융합된다.

[0496] 한 abTCR-3 실시양태에서, 하나의 쇄는 서열식별번호: 23 (항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3)의 서열을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_H 도메인 (서열식별번호: 38)이 Vα-Cα 영역 이후의 TCRα 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 일부분을 포함하는 TCRα 쇄의 부분인 서열식별번호: 15에 융합된 IgC_H1 도메인 (서열식별번호: 39)에 융합되고, 다른 쇄는 서열식별번호: 24의 서열을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_L 도메인 (서열식별번호: 40)이 Vβ-Cβ 영역 이후의 TCRβ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 일부분을 포함하는 TCRβ 쇄의 카르복시 부분인 서열식별번호: 16에 융합된 IgC_L 도메인 (서열식별번호: 41)에 융합된다. 한 abTCR-4 실시양태에서, 하나의 쇄는 서열식별번호: 25의 서열 (항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4)을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_L 도메인 (서열식별번호: 40)이 Vα-Cα 영역 이후의 TCRα 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 일부분을 포함하는 TCRα 쇄의 부분

인 서열식별번호: 15에 융합된 IgC_L 도메인 (서열식별번호: 41)에 융합되고, 다른 쇄는 서열식별번호: 26의 서열을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_H 도메인 (서열식별번호: 38)이 Vβ-Cβ 영역 이후의 TCRβ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 일부분을 포함하는 TCRβ 쇄의 카르복시 부분인 서열식별번호: 16에 융합된 IgC_H1 도메인 (서열식별번호: 39)에 융합된다.

[0497] abTCR-5 (IgV_H-IgC_H1-TCRɣ/IgV_L-IgC_L-TCRδ) 디자인에서는, 항체 중쇄의 가변 도메인 및 제1 불변 도메인 (IgV_H-IgC_H1)이 Vɣ-Cɣ 영역 이후의 TCRɣ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 경계를 이루거나 또는 그의 내부인 위치까지의 TCRɣ 쇄의 아미노 말단 부분을 교체한다. 상응하는 항체 경쇄의 가변 도메인 및 불변 도메인 (IgV_L-IgC_L)이 Vδ-Cδ 영역 이후의 TCRδ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 경계를 이루거나 또는 그의 내부인 위치까지의 TCRδ 쇄의 아미노 말단 부분을 교체한다. abTCR-6 (IgV_H-IgC_H1-TCRδ/IgV_L-IgC_L-TCRɣ) 디자인에서는, 항체 중쇄의 가변 도메인 및 제1 불변 도메인 (IgV_H-IgC_H1)이 Vδ-Cδ 영역 이후의 TCRδ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 경계를 이루거나 또는 그의 내부인 위치까지의 TCRδ 쇄의 아미노 말단 부분을 교체한다. 상응하는 항체 경쇄의 가변 도메인 및 불변 도메인 (IgV_L-IgC_L)이 Vɣ-Cɣ 영역 이후의 TCRɣ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 경계를 이루거나 또는 그의 내부인 위치까지의 TCRɣ 쇄의 아미노 말단 부분을 교체한다. 키메라 ɣ 및 δ 쇄가 1개는 IgC_L과 IgC_H1 도메인 사이에 있고, 1개는 TCRɣ 및 δ 쇄 내의 연결 펩티드들 사이에 있는 2개의 디술피드 결합을 통해 이량체화된다. 3xFlag 태그가 TCRɣ 쇄 세포질 영역의 C-말단에 임의적으로 융합되고, HA 태그가 TCRδ 쇄 세포질 영역의 C-말단에 임의적으로 융합된다.

[0498] 한 abTCR-5 실시양태에서, 하나의 쇄는 서열식별번호: 30의 서열 (항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5)을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_H 도메인 (서열식별번호: 38)이 Vɣ-Cɣ 영역 이후의 TCRɣ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 일부분을 포함하는 TCRɣ 쇄의 부분인 서열식별번호: 20에 융합된 IgC_H1 도메인 (서열식별번호: 39)에 융합되고, 다른 쇄는 서열식별번호: 29의 서열을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_L 도메인 (서열식별번호: 40)이 IgC_L 도메인 (서열식별번호: 41)에 융합된 후, Vδ-Cδ 영역 이후의 TCRδ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 일부분을 포함하는 TCRδ 쇄의 카르복시 부분인 서열식별번호: 19에 융합된다. 한 abTCR-6 실시양태에서, 하나의 쇄는 서열식별번호: 34의 서열 (항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6)을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_L 도메인 (서열식별번호: 40)이 Vɣ-Cɣ 영역 이후의 TCRɣ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 일부분을 포함하는 TCRɣ 쇄의 부분인 서열식별번호: 20에 융합된 IgC_L 도메인 (서열식별번호: 41)에 융합되고, 다른 쇄는 서열식별번호: 33의 서열을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_H 도메인 (서열식별번호: 38)이 Vδ-Cδ 영역 이후의 TCRδ 쇄의 세포외 도메인 내의 연결 펩티드의 일부분을 포함하는 TCRδ 쇄의 카르복시 부분인 서열식별번호: 19에 융합된 IgC_H1 도메인 (서열식별번호: 39)에 융합된다.

[0499] 도 1b에 도해된 바와 같이, 4개의 abTCR 디자인 각각의 변이가 또한 구상된다. 이러한 변이는 세포외 도메인의 길이를 변화시키는 것, 예컨대 (i) IgC 및 TCR 융합에 의해 형성된 접합점에서 잔기를 추가하는 것에 의해 길게 하는 것 또는 (ii) TCR 연결 펩티드의 N-말단에서 잔기를 결실시킴으로써 짧게 하는 것을 포함할 수 있다. abTCR-6의 이러한 변이의 실시양태가 abTCR-6MD이고, 여기서 하나의 쇄는 서열식별번호: 36의 서열 (항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD)을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_L 도메인 (서열식별번호: 40)이 TCRɣ 쇄 내의 Vɣ-Cɣ 영역 이후의 연결 펩티드의 (abTCR-6에 비교하여) 더 긴 부분을 포함하는 TCRɣ 쇄의 카르복시 말단 부분인 서열식별번호: 22에 융합된 IgC_L 도메인 (서열식별번호: 41)에 융합되고, 다른 쇄는 서열식별번호: 35의 서열을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_H 도메인 (서열식별번호: 38)이 TCRδ 쇄의 Vδ-Cδ 영역 이후의 연결 펩티드의 (abTCR-6에 비교하여) 더 긴 부분을 포함하는 TCRδ 쇄의 카르복시 말단 부분인 서열식별번호: 21에 융합된 IgC_H1 도메인 (서열식별번호: 39)에 융합된다. abTCR-5의 이러한 변이의 실시양태가 abTCR-5MD이고, 여기서 하나의 쇄는 서열식별번호: 31의 서열 (항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD)을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_L 도메인 (서열식별번호: 40)이 TCRδ 쇄의 Vδ-Cδ 영역 이후의 연결 펩티드의 (abTCR-5에 비교하여) 더 긴 부분을 포함하는 TCRδ 쇄의 카르복시 말단 부분인 서열식별번호: 21에 융합된 IgC_L 도메인 (서열식별번호: 41)에

융합되고, 다른 쇄는 서열식별번호: 32의 서열을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_H 도메인 (서열식별번호: 38)이 TCRɣ 쇄 내의 Vɣ-Cɣ 영역 이후의 연결 펩티드의 (abTCR-5에 비교하여) 더 긴 부분을 포함하는 TCRɣ 쇄의 카르복시 말단 부분인 서열식별번호: 22에 융합된 IgC_H1 도메인 (서열식별번호: 39)에 융합된다. abTCR-4의 이러한 변이의 실시양태가 abTCR-4MD이고, 여기서 하나의 쇄는 서열식별번호: 27의 서열 (항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD)을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_L 도메인 (서열식별번호: 40)이 Vα-Cα 영역 이후의 연결 펩티드의 (abTCR-4에 비교하여) 더 긴 부분을 포함하는 TCRα 쇄의 카르복시 말단 부분인 서열식별번호: 17에 융합된 IgC_L 도메인 (서열식별번호: 41)에 융합되고, 다른 쇄는 서열식별번호: 28의 서열을 포함하며, 여기서 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_H 도메인 (서열식별번호: 38)이 Vβ-Cβ 영역 이후의 연결 펩티드의 (abTCR-4에 비교하여) 더 긴 부분을 포함하는 TCRβ 쇄의 카르복시 말단 부분인 서열식별번호: 18에 융합된 IgC_H1 도메인 (서열식별번호: 39)에 융합된다.

[0500] 추가적인 변이는 추가적인 이펙터 도메인 (예를 들어, CD28의 세포내 도메인)을 TCRα/β/δ/ɣ 쇄 중 임의의 것의 C-말단 단부에 융합시키는 것을 포함할 수 있다. 또 다른 변이는 IgV 도메인과 IgC 도메인 사이의 링커 영역을 변화시키는 것을 포함할 수 있다.

[0501] **실시예 2: T 세포주에서의 abTCR의 발현**

[0502] 도 2에 제시된 바와 같이, 성숙 T 세포에서, TCR-CD3 복합체는 4개의 이량체성 모듈인 TCRαβ (또는 TCRɣδ), CD3δε, CD3ɣε 및 CD3ζζ로 구성되며, 이는 막내 및 막외 접촉을 통해 회합되어 무손상 복합체를 형성하는 것으로 생각된다 (문헌 [Wucherpfennig KW, et al., *Structural biology of the T-cell receptor: insights into receptor assembly, ligand recognition, and initiation of signaling*. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010 Apr; 2(4):a005140]). 세포질세망 (ER)에서 복합체 어셈블리가 일어난다. 완전한 TCR-CD3 복합체만이 골지체 내로 운반되고, 여기에서 글리코실화 프로세스를 겪고 T 세포의 형질막으로 수송된다. 불완전한 TCR은 골지에서 라이소솜으로 지시되고, 여기에서 분해된다.

[0503] T 세포에서의 abTCR 발현을 테스트하고, CD3 분자를 동원하고 T 세포 표면 상에서의 abTCR-CD3 복합체의 발현을 가능하게 하는 것에서 abTCR이 내인성 TCR처럼 기능할 수 있는지 여부를 시험하기 위해, abTCR 구축물을 돌연변이체 Jurkat T 세포 세포주인 J.RT3-T3.5 내로 도입하였다. Jurkat과 달리, αβ TCR-양성 백혈병 T 세포주인 J.RT3-T3.5는 TCR β 서브유닛 발현이 결여된 Jurkat 돌연변이체 세포주이다. TCR β 서브유닛 없이는 TCR-CD3 복합체의 어셈블리가 손상되기 때문에, J.RT3-T3.5 세포에서는 TCR 또는 CD3이 형질막으로 수송될 수 없다.

[0504] *웨스턴 블롯에 의한 abTCR 발현의 검출*

[0505] 5개의 abTCR 구축물 세트 (abTCR-3, -4, -5, -6, -6MD)를 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgV_H 및 IgV_L 영역으로 생성시켰다. J.RT3-T3.5 및 Jurkat 세포에 abTCR-3 (서열식별번호: 23 및 24), abTCR-4 (서열식별번호: 25 및 26), abTCR-5 (서열식별번호: 29 및 30), abTCR-6 (서열식별번호: 33 및 34), 또는 abTCR-6MD (서열식별번호: 35 및 36) 구축물을 형질도입하고, abTCR의 개별적인 서브유닛의 발현을 항-Flag 또는 항-HA 항체를 사용하여 웨스턴 블롯에서 검출하였다 (도 3). 각각의 구축물에 대해, 2개의 서브유닛을 2개의 별개의 렌티바이러스 벡터 내로 서브클로닝하였다. 완전한 abTCR 이종이량체를 발현시키기 위해, T 세포에 양쪽 벡터를 형질도입하였다. TCRβ 및 TCRδ 키메라는 HA 태그가 부착된 한편, TCRα 및 TCRɣ 키메라는 abTCR 서브유닛의 C-말단에 부착된 3xFlag 태그가 부착되었다. 각각의 abTCR 디자인에 대한 표지 하에, HA- 또는 3xFlag-태그를 보유하는 TCR 쇄가 도 3에서 괄호 안에서 지시된다.

[0506] J.RT3-T3.5 및 Jurkat 둘 다에서의 HA-태그 키메라 중에서 (도 3, 항-HA 패널), abTCR-3의 IgV_L-IgC_L-TCRβ 서브유닛이 가장 높은 발현을 나타냈고, abTCR-6 및 abTCR-6MD의 IgV_H-IgC_H1-TCRδ 서브유닛 및 abTCR-4의 IgV_H-IgC_H1-TCRβ 서브유닛이 뒤를 이었다. 3xFlag-태그 키메라 중에서 (도 3, 항-flag 패널), abTCR-6 및 abTCR-6MD의 IgV_L-IgC_L-TCRɣ에 대해 가장 높은 발현이 관찰되었고, ab-TCR-4의 IgV_L-IgC_L-TCRα가 뒤를 이었다. abTCR-5에 대한 쇄 둘 다 (IgV_H-IgC_H1-TCRɣ/IgV_L-IgC_L-TCRδ)가 테스트된 5개의 구축물 세트에서 가장 낮은 발현을 나타냈다. abTCR-6MD에 대한 TCRδ 쇄는 abTCR6과 유사한 수준으로 발현된 한편, abTCR-6MD에 대한 TCRɣ 쇄는 abTCR6에 대해 관찰된 것보다 더 낮은 수준으로 발현되었다. 형질도입된 세포의 백분율 및 형질도입된 세포에서의 발현 수준 둘 다가 웨스턴 블롯에서 검출되는 신호에 기여한다. 따라서, 다음으로 유동 세포측정법

을 수행하여 세포 표면 상의 abTCR 발현 수준을 결정하였다.

[0507] *유동 세포측정법에 의한 abTCR 세포-표면 발현 및 TCR-CD3 복합체 형성의 검출*

[0508] 상기 기술된 5쌍의 키메라 abTCR 쇄 (abTCR-3, -4, -5, -6, -6MD)을 개별적으로 J.RT3-T3.5 (도 4a-4c) 및 Jurkat (도 5a-5c) 세포 내로 형질도입하였다. abTCR 구축물이 형질도입된 세포를 하기에 의해 평가하였다: (i) J.RT3-T3.5 세포 상에서의 CD3ε 발현의 구제를 평가하기 위한 항-CD3ε 항체 (도 4a), (ii) Jurkat 세포에서의 TCRαβ의 내인성 발현에 대한 abTCR 구축물의 영향을 평가하기 위한 항-TCRαβ 항체 (도 5a), (iii) 형질도입된 abTCR 구축물에 의한 항원 결합을 평가하기 위한 PE-표지 AFP158/HLA-A*02:01 사량체 (도 4b 및 5b) 및 (iv) 키메라 구축물의 표면 발현을 평가하기 위한 abTCR 키메라에서 사용된 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체에 대한 항-이디오타입 항체 (도 4c 및 5c).

[0509] J.RT3-T3.5 세포의 경우, 모의 형질도입이 AFP158/HLA-A*02:01 사량체 및 항-이디오타입 항체에 결합하는 것을 부여하지 않았고, 세포 표면 상에서의 CD3ε 발현을 초래하지 않았다 (도 4a-4c). abTCR-3 및 abTCR-4가 형질도입된 J.RT3-T3.5 세포에서 항-이디오타입 항체로 abTCR-음성 피크로부터 연장되는 숄더가 검출되었다. 대조적으로, abTCR-5, -6 및 -6MD가 형질도입된 세포는 항-이디오타입 항체로 염색했을 때 높은 형광 강도에서 뚜렷한 피크를 나타냈다 (도 4c). 표적 항원 AFP158 사량체에 결합할 수 있다는 점에서 abTCR 구축물이 기능성이다 (도 4b). abTCR-6MD에서의 더 높은 AFP158 사량체-양성 피크에 의해 명백한 바와 같이, 더 큰 세포 집단이 abTCR-6에 비교하여 abTCR-6MD 구축물을 발현하였다. 그러나, AFP158 사량체-양성 피크의 평균 형광 강도 (MFI)가 유사하기 때문에, abTCR-6MD가 형질도입된 세포는 abTCR-6이 형질도입된 세포와 유사한 카피수/세포를 발현하는 것으로 보인다. 추가적으로, abTCR 구축물의 발현이 J.RT3-T3.5 세포에서 CD3ε의 세포 표면 발현을 구제하였다 (도 4a). TCR의 불변 도메인이 CD3 쇄와의 상호작용에 기여하여 왔기 때문에 이는 뜻밖이다 (문헌 [Kuhns and Davis, TCR Signaling Emerges from the Sum of Many Parts, Front Immunol. 2012; 3: 159], [Wang and Reinherz, The structural basis of αβ T-lineage immune recognition: TCR docking topologies, mechanotransduction, and co-receptor function, Immunol Rev. 2012, 250:102]에서 리뷰됨). 키메라가 TCR 불변 도메인을 IgC로 교체하였기 때문에, 본 발명자들은 TCR 불변 도메인이 TCR 복합체와의 CD3 어셈블리에 필수적이지 않음을 입증하였다. abTCR-6 및 abTCR-6MD가 형질도입된 세포를 항-CD3ε 및 AFP158/HLA-A*02:01 사량체로 공동-염색하고, 유동 세포측정법으로 분석했을 때, 본 발명자들은 $CD3\varepsilon^+$ J.RT3-T3.5 세포가 또한 AFP158 사량체-양성임을 확증하였다 (도 6). 이는 외인성 abTCR 키메라가 그의 동족 항원에 결합할 수 있는 기능성 수용체를 형성하고, J.RT3-T3.5 세포 상에서 CD3 복합체의 세포 표면 발현을 구제한다는 것을 가리킨다.

[0510] 동일한 세트의 실험을 abTCR-3, -4, -5, -6 및 -6MD 구축물과 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체를 사용하여 Jurkat 세포 (αβ TCR 양성 T 세포주)에서 또한 수행하였다 (도 5a-5c). 결과는 AFP158 사량체 염색 (도 5b) 및 항-이디오타입 항체 결합 (도 5c)의 관점에서 J.RT3-T3.5 세포에서 관찰된 것과 일관된다. 형질도입된 세포를 항-TCRα/β 항체로 또한 염색하여, 내인성 TCRα/β 쇄의 발현에 대한 abTCR 구축물의 영향을 결정하였다. 모의-형질도입 Jurkat 세포는 높은 수준의 TCRα/β를 발현한 한편, 각각의 abTCR-형질도입 세포에서는 TCRα/β 음성 집단이 TCRα/β 피크의 왼쪽에서 숄더로서 검출되었다 (도 5a). 이러한 데이터는 abTCR 키메라의 발현이 CD3 쇄에 대해 경쟁하여, 내인성 TCRα/β의 표면 발현의 감소를 초래한다는 것을 시사한다.

[0511] 웨스턴 블롯 및 유동 세포측정법 실험으로부터의 관찰을 조합하여, 본 발명자들은 abTCR-3 및 -4가 형질도입된 세포에서, 세포 표면으로 수송될 수 있는 TCR-CD3 복합체를 형성하도록 내인성 TCRα 서브유닛 중 일부가 abTCR 키메라의 외인성 β 쇄와 쌍을 이룰 수 있다고 가정한다. 대안적으로, abTCR-3 및 -4가 항-이디오타입 항체에 대한 에피토프의 노출을 제한한 상이한 형상을 지닐 수 있다. abTCR-3-형질도입 J.RT3-T3.5 및 Jurkat 세포에서, IgV_L-IgC_L-TCRβ 쇄의 높은 수준 발현 (웨스턴 블롯, 도 3)은 큰 백분율의 J.RT3-T3.5 세포가 세포 표면 상에서 CD3ε을 발현하는 것 (도 4a) 및 abTCR-3이 형질도입된 Jurkat 세포의 서브세트에서의 내인성 TCRα/β 발현의 감소를 초래하였다. abTCR-4가 형질도입된 세포에서, IgV_H-IgC_H1-TCRβ 쇄 또한 J.RT3-T3.5 세포에서의 CD3ε 발현 및 Jurkat 세포에서의 내인성 TCRα/β 발현의 감소를 초래하였지만, 훨씬 더 적은 정도였는데 이는 키메라 abTCR β 쇄 발현이 abTCR-3에 비교하여 abTCR-4에서 훨씬 더 낮기 때문이다 (웨스턴 블롯, 도 3).

[0512] abTCR-3 및 -4가 형질도입된 세포의 경우, $TCR\alpha\beta^+$ T 세포에서 외인성 TCRβ 키메라와 내인성 TCRα 쇄가 쌍을 이루는 것이 외인성 TCRα 키메라 쇄와 올바르게 쌍을 이루는 것에 이용가능한 TCRβ 키메라 쇄의 풀을 감소시킬 것으로 예상된다. 이는 키메라가 TCRδ 및 TCRγ 쇄로 생성되는 경우인 abTCR-5, -6 또는 -6MD 구축물을 발현할 때의 $TCR\alpha\beta^+$ T 세포에서는 문제가 되지 않을 것이다. abTCR 양성 피크에서의 높은 MFI가 abTCR-5, -6

또는 -6MD 구축물을 발현하는 J.RT3-T3.5 및 Jurkat 세포 둘 다에서의 올바르게 쌍을 이룬 키메라의 높은 개수와 일관된다. 반대로, TCRα 및 TCRβ 쇄로 키메라가 생성되는 경우인 abTCR-3 및 -4 구축물을 TCRδγ$^+$ T 세포에서의 발현을 위해 사용하는 것이 외인성 키메라 쇄가 내인성 TCRδ 및 TCRγ 쇄와 쌍을 이루는 것을 방지하기 위해 선호될 것이다.

[0513] **실시예 3. 1차 T 세포에서의 abTCR의 발현**

[0514] abTCR 구축물이 성공적으로 T 세포주 내로 형질도입되어, 기능성 항원-결합 수용체로서 CD3 복합체와 함께 세포 표면 상에서 발현될 수 있다는 것을 입증한 후, 다음으로 본 발명자들은 1차 T 세포에서의 abTCR의 발현을 테스트하였다.

[0515] *CD4+ 및 CD8+ 1차 T 세포에서 발현된 abTCR*

[0516] 말초 혈액 림프구를 건강한 지원자로부터 단리하고, 여기에 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티를 코딩하는 abTCR-6MD 구축물 (서열식별번호: 35 및 36)을 형질도입하였다. abTCRγ 및 δ 서브유닛을 동일한 렌티바이러스 벡터 내로 서브클로닝하여 1차 인간 T 세포에 형질도입하였다. 형질도입 5일 후, abTCR-T 세포 및 모의-형질도입 세포를 AFP158 사량체, 및 CD4 및 CD8 항체로 공동-염색하고, 유동 세포측정법으로 분석하였다. 도 7a는 CD8 대 항원 (AFP158 사량체) 결합의 산점도를 나타내는 한편, 도 7b는 CD8 대 CD4의 산점도를 나타낸다. 모의-형질도입 T 세포에서는, CD4:CD8 비가 약 2:1이다 (도 7b 상부 패널). 동일한 CD4:CD8 비가 abTCR-6MD 구축물이 형질도입된 세포에서 관찰되었다 (도 7b 중간 패널). 본 발명자들은 abTCR-6MD가 형질도입된 세포에서 AFP158 사량체$^+$ 집단에서 CD4:CD8 비가 또한 약 2:1임을 발견하였다 (도 7b 하부 패널 및 도 7a에서의 게이팅 참조). 이는 abTCR 키메라가 CD4$^+$ 및 CD8$^+$ 1차 T 세포 둘 다에서 발현될 수 있다는 것을 가리킨다.

[0517] *외인성 abTCR 쇄가 CD3 복합체와 물리적으로 회합된다*

[0518] T 세포주에서의 abTCR 발현이 J.RT3-T3.5 세포에서 CD3ε의 표면 발현을 구제할 수 있었다는 것을 고려하여, 본 발명자들은 1차 T 세포에서 발현된 abTCR 구축물이 CD3 복합체 내의 개별적인 쇄와 물리적으로 회합되는지를 공동-면역침전 (co-ip)에 의해 테스트하였다. 1차 T 세포를 항-CD3 및 항-CD28을 사용하여 자극한 후, 모의-형질도입하거나 또는 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티를 코딩하는 abTCR-6MD 구축물 (서열식별번호: 35 및 36)을 형질도입하였다. 형질도입 12일 후, abTCR-T 세포를 또 다른 12일 동안 SK-HEP-1-AFP-MG와 함께 공동-배양하여, AFP158 사량체+ 세포에 대해 강화하였다. 그 후, 세포를 디지토닌 (0.1%) 용해 완충제로 용해시키고, 항-Flag 항체를 사용하여 3xFlag 태그를 통해 TCRγ 쇄를 면역침전시켰다. 도 8에 나타난 바와 같이, CD3δ, CD3ε, CD3γ 및 CD3ζ 쇄가 abTCRγ 키메라와 함께 공동-면역침전되었으며, 이는 형질도입된 abTCR 키메라가 내인성 CD3 복합체와 물리적으로 회합하였음을 입증한다. 항-Flag 면역침전으로 모의-형질도입 샘플에서 관찰된, CD3ε보다 더 높은 MW의 밴드는 비-특이적 밴드이다.

[0519] 유사한 공동-면역침전 실험을 JRT3-T3.5 및 Jurkat 세포주에서 행한다. JRT3-T3.5 및 Jurkat 세포주에 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티를 코딩하는 abTCR-6MD 구축물 (서열식별번호: 35 및 36)을 형질도입한다. 형질도입 5일 후, 셀렉션(CELLection) 비오틴 결합제 키트를 사용하여 JRT3-T3.5 및 Jurkat 세포주로부터 AFP158 사량체+ 집단을 정제한다. abTCR-6MD가 형질도입되고 AFP158 사량체로 정제된 Jurkat 및 JRT3-T3.5 세포를 각각 Jurkat-abTCR-순수 및 JRT3-T3.5-abTCR-순수로 명명한다. JRT3-T3.5, JRT3-T3.5-abTCR-순수, Jurkat 및 Jurkat-abTCR-순수 세포를 확장시키고, 0.1% 디지토닌 용해 완충제에서 용해시킨다. 항-Flag 항체 (시그마) 및 면역침전용 다이나비즈 단백질 G (라이프 테크놀로지스(Life Technologies))를 사용하여 표준 프로토콜에 따라 공동-면역침전을 수행한다.

[0520] **실시예 4. 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 가변 도메인을 함유하는 abTCR-6MD 및 CAR 구축물이 형질도입된 T 세포의 생물학적 활성의 특성화**

[0521] *abTCR-형질도입 T 세포가 항원-양성 암 세포를 특이적으로 사멸시킬 수 있다*

[0522] 1차 T 세포에 모의-형질하거나 또는 항-AFP158/HLA-A*02:01 scFv를 코딩하는 CAR (서열식별번호: 37) 또는 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 가변 도메인을 함유하는 abTCR-6MD (서열식별번호: 35 및 36)를 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 형질도입하였다. PE-표지 AFP158/HLA-A*02:01 사량체로 염색함으로써 형질도입 효율을 결정하였다 (도 9a). 형질도입률이 유사한 T 세포 집단 (CART에 대해 32% 및 abTCR에 대해 34%)을 사용하여 이들이 암 세포주를 사멸시키는 능력을 테스트하였다. 2.5:1의 이펙터-대-표적 비로 3개의 세포주를 사용하였다: HepG2 (AFP+/HLA-A2+), SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+) 및 SK-HEP-1-AFP-MG (AFP 미니유전자가 형질도입된 SK-HEP-1). 특

이적 용해를 16시간 인큐베이션 후에 사이톡스 96 비-방사성 세포독성 검정법 (프로메가)을 사용하여 측정하였다. 도 9b에 나타난 바와 같이, 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티를 보유하는 CAR 및 abTCR-6MD 둘 다가 형질도입된 T 세포가 항원-양성 세포주 HepG2 및 SK-HEP-1-AFP-MG의 사멸을 지시하였지만, 항원-음성 세포주 SK-HEP-1의 사멸에는 이르지 않았다. abTCR-형질도입 세포에서 관찰된 특이적 용해의 수준이 CAR-T 세포에 대한 것과 등가이다.

[0523] *abTCR-형질도입 T 세포가 항원 자극 시 탈과립화된다*

[0524] abTCR- 대 CAR-형질도입 T 세포에서의 생물학적 활성을 추가로 특성화하기 위해, 본 발명자들은 탈과립화 활성의 척도로서 CD107a 표면 발현을 검출하기 위해 유동 세포측정법을 사용하였다. 항-AFP158/HLA*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR- 및 CAR-형질도입 T 세포를 상기와 같이 생성시켰고, 항-CD107a 항체 및 단백질 수송 억제제 칵테일 (이바이오사이언스(eBioscience))의 1:200 희석물의 존재 하에 HepG2, SK-HEP-1 및 SK-HEP-1-AFP-MG 세포와 함께 4시간 동안 공동-인큐베이션하였다. 표적 세포와의 공동-인큐베이션 후, 형질도입된 T 세포를 AFP158/HLA 사량체 및 항-CD8로 염색하였다. 사량체-양성, CD8-양성 T 세포에서의 탈과립화가 도 10, 오른쪽 패널에서 제시된다. CD107a 발현에 의해 측정된 바와 같은 가장 높은 수준의 탈과립화가 SK-HEP-1-AFP-MG (실선, 회색으로 채워짐)와의 공동-인큐베이션 시 관찰되었고, HepG2 (점선, 회색으로 채워짐)가 뒤를 이은 한편, 모체 항원-음성 SK-HEP-1 (실선, 백색으로 채워짐)로는 abTCR 및 CAR-형질도입 T 세포 둘 다로 탈과립화가 관찰되지 않았다. 동일한 표적 세포가 사용되었을 때 abTCR-형질도입 세포와 CAR-형질도입 세포 사이에서 탈과립화 수준이 유사하였다. 이는 상기의 T-세포 매개 세포 용해 데이터와 일관된다. 총괄적으로, 본 발명자들은 탈과립화 (도 10) 및 세포 사멸 매개 (도 9)에서 abTCR-형질도입 T 세포가 CAR-형질도입 세포와 동등하게 항원-양성 암 세포에 대해 반응성이라는 것을 입증하였다.

[0525] *종양 세포 사멸에서의 abTCR 및 CAR T 세포에 의한 시토카인 생산 및 분비*

[0526] abTCR 또는 CAR이 형질도입되고 형질도입률이 유사한 T 세포를 상기와 같이 생성시키고 표적 세포와 함께 공동-인큐베이션하였다. 도 9b에 제시된 시험관내 사멸 검정법 후의 배지 내로의 IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN-γ 및 TNF-α 방출을 매그픽스(Magpix) 다중 시스템 (루미넥스(Luminex))과 바이오-플렉스 프로 인간 시토카인 8-플렉스 검정법(Bio-plex Pro Human Cytokine 8-plex Assay) (바이오래드(BioRad))을 사용하여 측정하였다. 검정법의 검출 한계에 도달하기 위해, SK-HEP-1-AFP-MG 표적 반응으로부터의 상청액을 25배 희석한 한편, 모든 다른 샘플은 희석하지 않았다. 배지, 표적 단독 및 이펙터 단독으로부터 시토카인 방출을 차감한 후에, 공지된 표준 곡선으로 시토카인 농도를 결정하였다.

[0527] 고해상도 현미경 검사를 사용하여, 본 발명자들은 HepG2의 표면 상의 AFP158/HLA-A*02:01 복합체의 수를 세포당 ~100개인 것으로 추정하였다 (데이터는 제시되지 않음). 펩티드/HLA 복합체의 이러한 낮은 카피수에서, 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체를 사용한 유동 세포측정법은 유의한 MFI 이동을 검출할 수 없었다. 대조적으로, SK-HEP-1-AFP-MG 세포에서의 AFP 미니유전자의 발현은 유동 세포측정법에 의한 MFI에서의 1 log 이동을 초래하였으며, 이는 SK-HEP-1-AFP-MG 세포 상에서의 AFP158/HLA-A*02:01 복합체의 수준이 HepG2에서의 것보다 유의하게 더 높았다는 것을 가리킨다. HepG2를 표적 세포로 사용하고, 8개의 인간 시토카인 (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN-γ, TNF-α)의 패널을 abTCR- 또는 CAR-형질도입 T 세포와의 공동-인큐베이션 16시간 후에 측정했을 때, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN-γ, TNF-α가 배지에서 검출가능하였다 (도 11a). CAR-형질도입 샘플에 비교했을 때 abTCR-형질도입 샘플에서 시토카인 방출이 일관되게 더 낮았다. 동일한 검정법을 SK-HEP-1-AFP-MG로 행했을 때, 테스트한 8개의 시토카인 중 7개의 분비가 abTCR- 또는 CAR-형질도입 1차 T 세포와의 공동-인큐베이션 시 검출되었다 (도 11b). 테스트된 각각의 시토카인의 경우에, 배지에서 검출된 시토카인의 수준이 CAR-T 샘플에 비교하여 abTCR-형질도입 T 세포를 함유하는 샘플에서 유사하거나 더 낮았고, 일부는 2배 초과만큼 더 낮았다 (예를 들어, IL-2, IFN-γ, TNF-α). SK-HEP-1 세포 단독 또한 T 세포의 부재 하에 검출가능한 수준 (배경보다 ~3000 pg/ml 높음)의 IL-6 및 IL-8을 나타냈다.

[0528] 배지에서 검출된 시토카인의 공급원으로서의 형질도입된 T 세포의 기여를 결정하기 위해, 시토카인 분비를 방지하는 단백질 수송 억제제 칵테일 (이바이오사이언스 Cat#00498003)과 함께 유사한 형질도입 효율 (34%)의 abTCR- 및 CAR-형질도입 T 세포를 2.5:1 비의 표적 세포와 함께 공동-배양하였다. 4시간 처리 후, T 세포를 항-TNF-α, 항-IFN-γ, 항-IL-2 또는 항-IL-6 항체와 함께 AFP158/HLA-A*02:01 사량체 및 항-CD4 항체로 염색하였다. 유동 세포측정법을 사용하여, AFP158 사량체$^{+}$ 세포 상에서 게이팅하여 (도 12a-12h), 본 발명자들은 항원-양성 표적 세포와 함께 공동-배양되었을 때 abTCR- 및 CAR-형질도입 T 세포 둘 다에서 세포내 TNF-α, IFN-γ 및 IL-2이 발현되었지만, IL-6은 그렇지 않았음을 입증하였다. 시험된 각각의 시토카인에 대해, 세포내 시

토카인의 수준이 HepG2보다 SK-HEP-1-AFP-MG에서 일관되게 더 높았으며, 이는 표적 세포 상에서의 항원 발현의 수준과 상호관련된다. 각각의 표적 세포 집단에 대해, 테스트된 각각의 시토카인에 대해 abTCR-형질도입 세포 대 CAR-형질도입 세포 사이에서 세포내 시토카인에서의 유의한 차이가 없었다. 이는 시토카인 방출 검정법에서 나타난 차이가 시토카인 피드백에 기인할 수 있다는 것을 시사한다. 형질도입된 T 세포에서의 세포내 IL-6의 부재는 도 11b에서 배지에서 검출된 IL-6의 공급원이 T 세포가 아니라 SK-HEP-1 세포로부터의 것임을 시사한다.

[0529] CD4+ T 세포에서의 abTCR 활성화가 특이적인 생물학적 반응에 이를 수 있는지를 결정하기 위해, 본 발명자들은 AFP를 발현하는 암 세포주로의 자극 후의 $CD4^+$, 항-AFP158 abTCR-발현 T 세포에서의 세포내 시토카인 발현을 조사하였다. CD3+ T 세포에 상기 기술된 바와 같은 항-AFP158 abTCR을 형질도입하고, 단백질 수송체 억제제의 존재 하에 4시간 동안 암 세포주 SK-HEP1-MG (AFP^+), SK-HEP1 (AFP^-), 또는 HEPG2 (AFP^+)와 함께 인큐베이션하였다. 음성 대조군으로서, abTCR-형질도입 T 세포를 어떠한 암 세포주도 없이 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, T 세포를 항-IFNγ, 항-IL2, 또는 항-TNFα 항체로 염색하고, AFP-사량체-PE 및 항-CD4로 공동-염색하였다. abTCR 발현에 대해 게이팅된 세포를 과립도 및 시토카인 발현에 대해 유동 세포측정법으로 분석하였다 (도 13, Y축은 측면 산란이고, X축은 시토카인 염색이다). IFNγ, IL2, 및 TNFα의 발현이 항-AFP158 abTCR-형질도입 T 세포를 AFP^+ 암 세포주 SK-HEP1-MG 및 HEPG2와 함께 인큐베이션한 후에 유도되었지만, AFP^- 세포주 SK-HEP1와 함께 또는 어떠한 암 세포주도 없이 인큐베이션되었을 때는 그렇지 않았으며, 이는 CD4+ T 세포에서의 abTCR의 항원-특이적 활성화를 가리킨다.

[0530] *표적 세포와의 공동-배양 후의 abTCR 및 CAR T 세포에서의 T 세포 고갈 마커 발현*

[0531] 항원 자극 시 abTCR- 및 CAR-형질도입 세포에서 발현된 고갈 마커의 수준을 시험하기 위해, 상기와 같이 $CD3^+$ T 세포를 이지셉 인간 T 세포 단리 키트 (스템셀 테크놀로지스)를 사용하여 PBMC-강화 전혈로부터 제조하고 CD3/CD28 다이나비즈로 활성화시켰다. 활성화 및 확장된 세포 집단은 유동 세포측정법에 의해 >99% CD3+였다. 그 후, 이러한 세포에 항-AFP158/HLA-A*02:01 scFv를 함유하는 CAR (서열식별번호: 37) 또는 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 가변 도메인을 함유하는 abTCR-6MD (서열식별번호: 35 및 36)를 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 7-9일 동안 형질도입하였다. 형질도입된 세포를 2.5:1의 이펙터-대-표적 비로 16시간 동안 표적 세포와 함께 공동-배양하고, 고갈 마커 PD-1, TIM-3 또는 LAG-3에 대한 항체와 함께, AFP158 사량체 및 항-CD8 항체로 공동-염색하였다. 형질도입된 T 세포 상에서의 고갈 마커의 수준을 사량체+ (즉, 형질도입된) T 세포 상에서 게이팅함으로써 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 독립적인 유동 세포측정법 실험에서, 본 발명자들은 CD8-인 사량체+ T 세포가 CD4+였음을 결정하였다 (데이터는 제시되지 않음).

[0532] AFP를 발현하는 표적 세포 (HepG2 및 SK-HEP-1-AFP-MG)에 대한 노출 후에, PD-1의 상향조절이 $CD8^-$사량체$^+$ T 세포에서 관찰된 한편, LAG-1 및 TIM-3의 상향조절이 $CD8^+$사량체$^+$ T 세포에서 관찰되었다 (도 14). 모든 경우에, CAR-형질도입 T 세포에서 관찰된 고갈 마커 상향조절의 수준이 abTCR-형질도입 T 세포에서 관찰된 것과 같거나 또는 이보다 더 높았다. 이는 abTCR이 형질도입된 T 세포가 더 낮은 수준의 T 세포 고갈을 초래하여, 생체내에서의 더 긴 T 세포 지속을 초래할 수 있다는 것을 시사한다. 테스트 조건에서 각각의 고갈 마커에 대해 양성인 세포의 퍼센트가 결정되었고, 표 2에서 제시된다.

[0533] 표 2

표적 세포주	T 세포 서브세트	PD1 (%)		TIM3 (%)		LAG3 (%)	
		CAR	abTCR	CAR	abTCR	CAR	abTCR
HEPG2	CD8	11	5.0	33	15	21	7.7
	CD4	41	22	22	6.8	2.0	0.8
SK-HEP1	CD8	3.2	2.0	7.3	2.2	4.9	2.8
	CD4	27	14	8.1	2.0	1.0	0.5
SK-HEP1-AFP MG	CD8	42	35	45	34	88	81
	CD4	87	81	46	34	32	24
T 세포 단독	CD8	1.7	1.1	1.1	0.5	1.4	1.0
	CD4	15	7.4	2.2	0.4	0.4	0.2

[0534]

[0535] *abTCR 및 CAR T 세포에서의 T 세포 분화 마커 발현*

[0536] 항-AFP158 abTCR이 시험관내 확장 동안 T 세포의 분화를 지연시킬 수 있는지를 결정하기 위해, 본 발명자들은 3개의 T 세포 분화 마커인 기억 T 세포 마커 CCR7 및 CD28 및 최종 분화 마커 그랜자임 B의 세포 표면 발현을 측정하였다. T 세포에 항-AFP158/HLA-A*02:01 scFv를 함유하는 CAR (서열식별번호: 37) 또는 동일한 항-AFP158/HLA-A*02:01 가변 도메인을 함유하는 abTCR-6MD (서열식별번호: 35 및 36)를 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 형질도입하고, 이러한 마커들에 대한 항체로 염색하고, 바이러스 형질도입 10-12일 후에 유동 세포측정법으로 분석하였다 (도 15). 결과는 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 둘 다에 대해, abTCR T 세포가 CAR T 세포보다 CCR7 및 CD28을 더 많이 발현하였지만, 그랜자임 B를 더 적게 발현하였음을 나타내며, 이는 항-AFP158 abTCR T 세포가 시험관내에서의 T 세포 확장 후 항-AFP158 CAR T 세포보다 덜 분화되었음을 시사한다.

[0537] *항-AFP abTCR-6MD 및 abTCR-7 구축물의 비교*

[0538] 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD를 발현하도록 형질도입된 1차 T 세포의 세포 성장을 동일한 항체 가변 도메인이 있는 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7이 형질도입된 T 세포의 것과 비교하였다. 6.7×10^5개의 T 세포를 제0일에 100 U/ml IL-2의 존재 하에 αCD3/αCD28 비드 (1:1 비)로 활성화시켰다. 활성화된 T 세포에 제1일에 MOI 4로 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD (서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 갖는 TCRδ 키메라 서브유닛 및 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 갖는 TCRγ 키메라 서브유닛)를 코딩하는 렌티바이러스 벡터 또는 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 (서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 갖는 TCRδ 키메라 서브유닛 및 서열식별번호: 82의 아미노산 서열을 갖는 TCRγ 키메라 서브유닛)을 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 형질도입하였다. 그 후, 형질도입된 T 세포를 IL-2의 존재 하에 9-10일 동안 배양하고 확장시켰다. 제1일, 제5일, 제7일, 및 제9일에 세포수를 카운팅하였다. 도 16a에 나타난 바와 같이, abTCR-6-MD가 형질도입된 T 세포가 abTCR-7-형질도입 T 세포보다 더 빠르게 성장하였고, 제9일에 생육성 세포가 거의 2배 더 많았다. 제9일의 형질도입된 T 세포에서의 abTCR-6MD 및 abTCR-7 구축물의 발현을 FLAG-태그 구축물에 대한 웨스턴 블롯 분석으로 평가하였다. 간략하게, 5백만개의 형질도입된 T 세포를 100 μl 용해 완충제에서 용해시키고, 13 μl의 용해물을 NuPage 시스템을 사용하여 4-12% 폴리아크릴아미드 겔 상에서 분리시켰다. 마우스 항-FLAG 항체 (1 μg/ml)를 사용하여 abTCR 감마 쇄를 검출하였고,마우스 항-CD3제타 (1 μg/ml)를 사용하여 내인성 CD3를 검출하였다. 도 16b에 나타난 바와 같이, abTCR-7 구축물이 abTCR-6MD 구축물보다 더 높은 수준으로 발현되었다. 상응하는 항-CD3ζ 밴드에 대해 정규화된, 용해물에 대한 항-FLAG 밴드의 강도를 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 정량화하였으며, 이는 abTCR-6MD에 비교하여 abTCR-7의 발현에 대해 20%의 상대적 증가를 나타냈다.

[0539] 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD T 세포의 표적-세포 사멸 활성을 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 T 세포의 것과 비교하였다. 1차 T 세포에 모의-형질도입하거나 또는 상기 기술된 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD 또는 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 구축물을 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 형질도입하였다. abTCR-6MD 또는 abTCR-7이 형질도입된 T 세포를 5:1의 이펙터-대-표적 비로 SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+) 및 SK-HEP-1-AFP-MG (AFP

미니유전자가 형질도입된 SK-HEP-1) 세포를 사멸시키는 능력에 대해 테스트하였다. 특이적 사멸의 수준을 상기 기술된 바와 같이 16시간에 측정하였다. 도 16c에 나타난 바와 같이, 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD 구축물이 동일한 항체 가변 도메인이 있는 abTCR-7에 비교하여 AFP-양성 SK-HEP-1-AFP-MG 세포의 유사한 특이적 용해를 지시하였다.

[0540] **실시예 5. 동일한 항-인간 CD19 가변 도메인이 있는 abTCR-6MD 및 CAR 구축물이 형질도입된 T 세포의 생물학적 활성의 특성화**

[0541] 실시예 4에서, 사용된 항체 모이어티는 TCR-모방체였으며, 이는 항원으로서의 펩티드/MHC 복합체에 결합한다. abTCR 디자인이 전통적인 항체 표적 (세포 표면 항원)과도 작동된다는 것을 입증하기 위해, 인간 CD19에 대한 항체를 기초로 하는 구축물을 사용하여 유사한 실험 세트를 수행하였다.

[0542] *CD19 abTCR-형질도입 T 세포가 CD19-양성 암 세포를 사멸시킬 수 있다*

[0543] 1차 T 세포에 모의-형질도입하거나 또는 항-CD19 결합 도메인을 함유하는 CAR (서열식별번호: 44이고, 예시적인 항-CD19 항체로부터의 서열식별번호: 45의 IgV_H 도메인 및 서열식별번호: 46의 IgV_L 도메인이 있는 scFv를 포함함) 또는 동일한 항-CD19 가변 도메인을 함유하는 abTCR-6MD (서열식별번호: 42 및 43)를 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 형질도입하였다. 5:1의 이펙터-대-표적 비로 CAR 또는 abTCR (둘 다 25% 형질도입률)이 형질도입된 T 세포를 사용하여 이들이 B 세포주 JeKo-1 ($CD19^+$), IM9 ($CD19^+$), Jurkat ($CD19^-$), 및 THP-1 ($CD19^-$)을 사멸시키는 능력을 테스트하였다. 특이적 사멸의 수준을 도 9b에 대해 기술된 것과 동일한 방법을 사용하여 16시간에 측정하였다. 도 17에 나타난 바와 같이, 항-CD19 결합 모이어티가 있는 CAR 및 abTCR-6MD 둘 다가 유사한 수준으로 CD19-양성 JeKo-1 및 IM9 세포의 사멸을 지시하였지만, CD19-음성인 Jurkat 및 THP-1은 사멸시키지 않았다.

[0544] *종양 세포 사멸에서의 abTCR 및 CAR T 세포에 의한 시토카인 분비*

[0545] 상기의 암 사멸 실험에서 사용된 것과 동일한 형질도입된 T 세포 집단을 이들을 표적 세포로서의 JeKo-1, IM9, THP-1 및 Jurkat과 함께 공동-인큐베이션함으로써 시토카인 방출 검정법에서 사용하였다. 8개의 인간 시토카인 (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN-γ, TNF-α)의 패널을 16시간 후에 측정하였다. 테스트된 모든 시토카인이 $CD19^+$ 표적 세포와의 공동-인큐베이션 시 CAR-형질도입 T 세포의 배지에서 검출되었지만, $CD19^-$ 세포에서는 그렇지 않았다 (도 18a 및 18b). abTCR-형질도입 T 세포와 함께 공동-인큐베이션된 샘플에서, IL-10을 제외한, 테스트된 모든 시토카인에 대한 방출이 abTCR 샘플과 $CD19^+$ 세포에서 더 낮았다. 항-CD19 항체 구축물로의 이러한 발견은 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체 구축물의 것과 유사하였다; 유사한 암 세포 사멸이 CAR-T 및 abTCR-형질도입 세포에 대해 관찰된 한편, abTCR-형질도입 T 세포가 사용되었을 때 시토카인 방출 수준이 더 낮았다. 이는 높은 수준의 시토카인 방출이 바람직하지 않은 생리학적 효과를 야기하는 환경에서 abTCR을 사용하는 것에 유리할 수 있다.

[0546] CD4+ T 세포에서의 abTCR 활성화가 특이적인 생물학적 반응에 이를 수 있는지를 결정하기 위해, 본 발명자들은 CD19를 발현하는 암 세포주로의 자극 후에 $CD4^+$, 항-CD19 abTCR-발현 T 세포에서 세포내 시토카인 발현을 조사하였다. CD3+ T 세포에 클론 5-13 abTCR-6MD (서열식별번호: 56 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 클론 5-13 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD)를 형질도입하고, 단백질 수송체 억제제의 존재 하에 4시간 동안 암 세포주 Raji ($CD19^+$), Raji-CD19KO ($CD19^-$), 또는 Jeko-1 ($CD19^+$)와 함께 인큐베이션하였다. 음성 대조군으로서, abTCR-형질도입 T 세포를 어떠한 암 세포주도 없이 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, T 세포를 항-IFNγ, 항-IL2, 또는 항-TNFα 항체로 염색하고, 항-인간 Fab (CD19) 및 항-CD4로 공동-염색하였다. abTCR 발현에 대해 게이팅된 세포를 과립도 및 시토카인 발현에 대해 유동 세포측정법으로 분석하였다 (도 19, Y축은 측면 산란이고, X축은 시토카인 염색이다). IFNγ, IL2, 및 TNFα의 발현이 항-CD19 abTCR-형질도입 T 세포를 $CD19^+$ 암 세포주 Raji 및 Jeko-1와 함께 인큐베이션한 후에 유도되었지만, $CD19^-$ 세포주 Raji-CD19KO와 함께 또는 어떠한 암 세포주도 없이 인큐베이션되었을 때는 그렇지 않았으며, 이는 CD4+ T 세포에서의 abTCR의 항원-특이적 활성화를 가리킨다.

[0547] *표적 세포와의 공동-배양 후의 abTCR 및 CAR T 세포에서의 T 세포 고갈 마커 발현*

[0548] 항원 자극 시의 항-CD19 abTCR- 및 CAR-형질도입 세포에서 발현된 고갈 마커의 수준을 항-AFP158 키메라 수용체

에 대해 상기 기술된 바와 같이 결정하였다. 세포에 클론 5-13 abTCR-6MD 또는 동일한 항-CD19 가변 도메인을 함유하는 CAR을 형질도입하였다. 표적 세포주는 Raji (CD19+), Raji-CD19KO (CD19-), 및 Jeko-1 (CD19+)을 포함하였다. 테스트 조건에서의 각각의 고갈 마커에 대해 양성인 세포의 퍼센트가 결정되었고, 표 3에서 제시된다.

[0549] **표 3**

표적 세포주	T 세포 서브세트	PD1 (%)		TIM3 (%)		LAG3 (%)	
		CAR	abTCR	CAR	abTCR	CAR	abTCR
Raji	CD8	14	4.0	47	37	95	93
	CD4	74	41	29	24	65	47
Raji-CD19 KO	CD8	2.9	0.3	54	35	40	29
	CD4	27	7.0	12	13	5.3	4.1
Jeko-1	CD8	14	4.7	48	40	92	76
	CD4	70	33	36	30	58	31
T 세포 단독	CD8	1.7	0.2	5.1	9.8	9.4	5.6
	CD4	15	2.2	0.3	1.0	1.1	1.0

[0550]

[0551] *abTCR 및 CAR T 세포에서의 T 세포 분화 마커 발현*

[0552] 항-CD19 abTCR이 시험관내 확장 동안 T 세포의 분화를 지연시킬 수 있는지를 결정하기 위해, 본 발명자들은 3개의 T 세포 분화 마커인 기억 T 세포 마커 CCR7 및 CD28 및 최종 분화 마커 그랜자임 B의 세포 표면 발현을 측정하였다. T 세포에 클론 5-13 abTCR-6MD 또는 동일한 항-CD19 가변 도메인이 있는 CAR을 형질도입하고, 이러한 마커들에 대한 항체로 염색하고, 바이러스 형질도입 10-12일 후에 유동 세포측정법으로 분석하였다 (도 20). 결과는 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 둘 다에 대해, abTCR T 세포가 CAR T 세포보다 CCR7 및 CD28을 더 많이 발현하였지만, 그랜자임 B를 더 적게 발현하였음을 나타내며, 이는 항-AFP158 키메라 수용체에 대해 관찰된 것과 일관되게, 클론 5-13 abTCR T 세포가 시험관내에서의 T 세포 확장 후 상응하는 CAR T 세포보다 덜 분화되었음을 시사한다.

[0553] *abTCR 및 CAR T 세포의 증식*

[0554] abTCR T 세포가 CAR T 세포보다 덜 분화되고, 증식 잠재력이 더 높은지를 추가로 결정하기 위해, 본 발명자들은 abTCR 및 CAR T 세포가 그의 항원-양성 암 세포와의 결속 후의 CFSE 형광 (세포 분열 지표)에서의 변화를 모니터링하였다. T 세포를 클론 5-13 abTCR-6MD 또는 클론 항-CD19 가변 도메인이 있는 CAR의 바이러스 형질도입 후 제10일에 CFSE 염료로 표지하고, 기준선 형광을 유동 세포측정법으로 기록하였다. 표지된 T 세포를 시토카인이 없는 배지에서 Raji 세포 (CD19+ 암 세포주)와 함께 인큐베이션하였다. CD4+ 및 CD8+ T 세포에 대해 제2일 및 제3일에 유동 세포측정법으로 CFSE 형광을 측정하였다 (도 21). 세포 증식의 양을 가리키는, 제2일과 제3일 사이의 CFSE 형광 강도의 감소가 CAR T 세포보다 abTCR T 세포에서 유의하게 더 높았으며, 이는 상응하는 CAR T 세포보다 클론 5-13 abTCR T 세포가 더 많은 세포 분열을 겪는다는 것을 가리킨다.

[0555] *abTCR 및 CAR T 세포의 키메라 수용체 내재화*

[0556] T 세포 표면 abTCR 및 CAR의 내재화 속도를 비교하기 위해, T 세포에 클론 5-13 abTCR-6MD 또는 동일한 항-CD19 가변 도메인을 함유하는 CAR을 형질도입하고,산성 pH 6.5에서 형광을 방출하는 pH 민감성 염료인 CypHer5E로 표지된 항-CD19 결합 모이어티를 인식하는 항-이디오타입 항체로 얼음 상에서 30분 동안 염색하였다. 그 후, 세포를 지시된 양의 시간 동안 37℃에서 인큐베이션하고, 고정하고, 과립도 및 키메라 수용체 발현에 대해 유동 세포측정법으로 분석하였다 (도 22, Y축은 측면 산란이고, X축은 CypHer5E 염색이다). 결과는 염색 후 90분까지 거의 모든 CAR이 내재화되었음을 나타낸다. 대조적으로, abTCR은 훨씬 더 느린 속도로 내재화되었고, 심지어 90분에 대부분의 abTCR이 세포 표면 상에 남아 있었다.

[0557] *항-CD19 abTCR 및 cTCR 구축물의 비교*

[0558] 항-CD19 abTCR-6MD를 발현하도록 형질도입된 1차 T 세포의 세포 성장을 동일한 항체 가변 도메인 및 막횡단 도메인이 있지만 불변 영역이 TCRδ 및 TCRɣ 폴리펩티드로부터의 것인 항-CD19 키메라 구축물 (cTCR)이 형질도입된 T 세포의 것과 비교하였다. 6.7 x 10^5개의 T 세포를 제0일에 100 U/ml IL-2의 존재 하에 αCD3/αCD28 비드 (1:1 비)로 활성화시켰다. 활성화된 T 세포에 제1일에 MOI 4로 항-CD19 abTCR-6MD (서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 갖는 TCRδ 키메라 서브유닛 및 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 갖는 TCRɣ 키메라 서브유닛)를 코딩하는 렌티바이러스 벡터 또는 항-CD19 cTCR (서열식별번호: 75의 아미노산 서열을 갖는 TCRδ 키메라 서브유닛 및 서열식별번호: 76의 아미노산 서열을 갖는 TCRɣ 키메라 서브유닛)을 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 형질도입하였다. 그 후, 형질도입된 T 세포를 IL-2의 존재 하에 9-10일 동안 배양하고 확장시켰다. 제1일, 제5일, 제7일, 및 제9일에 세포수를 카운팅하였다. 도 23a에 나타난 바와 같이, abTCR-형질도입 T 세포가 cTCR-형질도입 T 세포보다 더 빠르게 성장하였고, 제9일에 1.7배 초과로 더 많은 생육성 세포가 카운팅되었다.

[0559] 항-CD19 abTCR T 세포의 표적-세포 사멸 활성을 항-CD19 cTCR T 세포의 것에 비교하였다. 1차 T 세포에 모의-형질도입하거나 또는 항-CD19 abTCR-6MD 또는 항-CD19 cTCR을 코딩하는 렌티바이러스 벡터를 형질도입하였다. abTCR 또는 cTCR이 형질도입된 T 세포를 5:1의 이펙터-대-표적 비로 CD19-양성 표적 세포주 Nalm-6을 사멸시키는 능력에 대해 테스트하였다. 특이적 사멸의 수준을 상기 기술된 바와 같이 16시간에 측정하였다. 도 23b에 나타난 바와 같이, 항-CD19 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD 구축물이 동일한 항-CD19 가변 도메인이 있는 cTCR보다 CD19-양성 Nalm-6 세포의 더 큰 특이적 용해를 지시하였다.

[0560] **실시예 6. 동일한 항-NY-ESO-1/HLA-A*02:01 가변 도메인이 있는 abTCR-6MD 및 CAR 구축물이 형질도입된 T 세포의 생물학적 활성의 특성화**

[0561] *항-NY-ESO-1/HLA-A*02:01 abTCR-형질도입 T 세포가 NY-ESO-1-양성 암 세포를 사멸시킬 수 있다*

[0562] 1차 T 세포에 모의-형질도입하거나 또는 서열식별번호: 73의 아미노산 서열을 갖는 IgV_L 도메인 및 서열식별번호: 72의 아미노산 서열을 갖는 IgV_H 도메인을 포함하는 항-NY-ESO-1/HLA-A*02:01 결합 모이어티를 함유하는 CAR 또는 abTCR-6MD를 발현하도록 형질도입하였다. CAR은, N-말단에서 C-말단으로, IgV_L 도메인, 링커 (서열식별번호: 74), 및 IgV_H 도메인이 있는 scFv를 포함하였다. CAR 또는 abTCR이 형질도입된 T 세포가 유동 세포측정법으로 검정된 바와 같이 유사한 수준으로 각각의 키메라 수용체를 발현하였고, 이를 5:1의 이펙터-대-표적 비로 세포주 IM9 (HLA-$A2^+$, NY-ESO-1^+), Colo205 (HLA-$A2^+$, NY-ESO-1^-), MDA-231 (HLA-$A2^+$, NY-ESO-1^-), MCF7 (HLA-$A2^+$, NY-ESO-1^-), JeKo-1 (HLA-$A2^+$, NY-ESO-1^+), Raji (HLA-$A2^+$, NY-ESO-1^-), Hep1 (HLA-$A2^+$, NY-ESO-1^-), 및 Jurkat (HLA-$A2^+$, NY-ESO-1^-)을 사멸시키는 능력을 테스트하는데 사용하였다. 특이적 사멸의 수준을 상기 기술된 것과 동일한 방법을 사용하여 16시간에 측정하였다. 도 24에 나타난 바와 같이, 항-NY-ESO-1/HLA-A*02:01 결합 모이어티가 있는 CAR 및 abTCR-6MD 둘 다가 유사한 수준으로 NY-ESO-1-양성 JeKo-1 및 IM9 세포의 사멸을 지시하였지만, NY-ESO-1-음성인 다른 세포는 사멸시키지 않았다.

[0563] *종양 세포 사멸에서의 abTCR 및 CAR T 세포에 의한 시토카인 분비*

[0564] 상기의 암 사멸 실험에서 사용된 것과 동일한 형질도입된 T 세포 집단을 이들을 IM9, Colo205, MDA-231, MCF7, JeKo-1, Hep1, 및 Jurkat 세포와 함께 공동-인큐베이션함으로써 시토카인 방출 검정법에서 사용하였다. 4개의 인간 시토카인 (IL-2, GM-CSF, IFN-ɣ, TNF-α)의 패널을 16시간 후에 측정하였다. 테스트된 모든 시토카인이 NY-ESO-1^+ 표적 세포와의 공동-인큐베이션 시 CAR- 및 abTCR-형질도입 T 세포의 배지에서 검출되었지만, 대부분의 NY-ESO-1^- 세포에서는 그렇지 않았다 (데이터는 제시되지 않음). 중요하게, abTCR-형질도입 T 세포 공동-인큐베이션에 의한 대부분의 테스트된 NY-ESO-1^+ 표적 세포로부터 방출된 시토카인의 수준이 CAR-형질도입 T 세포 공동-인큐베이션에 의한 것보다 유의하게 더 낮았다 (데이터는 제시되지 않음).

[0565] **실시예 7. abTCR-6MD 구축물이 형질도입된 천연 킬러 T (NKT) 세포 및 조절 T (Treg) 세포의 생물학적 활성의 특성화**

[0566] *항-CD19 abTCR-형질도입 NKT 세포*

[0567] 비-$CD3^+/CD56^+$ 세포 (비-NKT 세포)를 비오틴-항체 칵테일 및 항-비오틴 마이크로비드로 간접적으로 자기 표지하고, 비-NKT 세포를 고갈시켜 $CD3^+/CD56^+$ NKT 세포에 대해 강화함으로써, NKT 세포를 인간 PBMC로부터 단리하였다. 강화된 NKT 세포 집단에 대한 CD3 및 CD56의 표면 발현이 유동 세포측정법으로 평가되었고, 도 25a에서 제시된다. NKT 세포를 항-CD3/항-CD28 비드로 활성화시키고, 항-CD19 abTCR을 코딩하는 렌티바이러스를 형질도입하고, 10% FBS 및 IL-2 (100 U/ml)를 함유하는 RPMI-1640에서 확장시켰다. 항-CD19 결합 모이어티에 대해 특이적인 항-이디오타입 항체로의 유동 세포측정법에 의해 측정된 바와 같이 형질도입 효율이 80%를 초과하였다. NKT 세포를 5:1의 이펙터-대-표적 비로 CD19-발현 Raji 또는 Raji CD19-놋아웃 (CD19ko) 암 세포주와 함께 16시간 동안 공동-인큐베이션한 후, 배지 내의 시토카인 방출 (IL-2, GM-CSF, IFNγ, TNFα)을 측정하였다 (도 25b). 모의-형질도입 NKT 세포는 그렇지 않았지만, 항-CD19 abTCR-형질도입 NKT 세포는 CD19-양성 Raji 세포와 함께 인큐베이션되었을 때 각각의 테스트된 시토카인을 방출하도록 활성화되었지만, CD19-음성 Raji CD19ko 세포에서는 그렇지 않았으며, 이는 형질도입된 abTCR과 암 세포 상의 CD19 항원의 결합을 통해 NKT 세포가 특이적으로 활성화될 수 있다는 것을 가리킨다.

[0568] *항-CD19 abTCR-형질도입 Treg 세포*

[0569] $CD4^+/CD25^+$ Treg 세포의 직접적인 자기 표지화에 의해 Treg 세포를 인간 PBMC로부터 단리하였다. 단리된 Treg 세포 집단에 대한 CD4 및 CD25의 표면 발현이 유동 세포측정법으로 평가되었고, 도 26a에서 제시된다. Treg 세포를 항-CD3/항-CD28 비드로 활성화시키고, 항-CD19 abTCR을 코딩하는 렌티바이러스를 형질도입하고, 10% FBS 및 IL-2 (100 U/ml)를 함유하는 RPMI-1640에서 확장시켰다. 항-CD19 결합 모이어티에 대해 특이적인 항-이디오타입 항체로의 유동 세포측정법에 의해 측정된 바와 같이 형질도입 효율이 80%였다. Treg 세포를 5:1의 이펙터-대-표적 비로 CD19-발현 Raji 또는 Raji CD19-놋아웃 (CD19ko) 암 세포주와 함께 16시간 동안 공동-인큐베이션한 후, 배지 내의 IL-10 시토카인 방출을 측정하였다 (도 26b). 모의-형질도입 Treg 세포는 그렇지 않았지만, 항-CD19 abTCR-형질도입 Treg 세포는 CD19-양성 Raji 세포와 함께 인큐베이션되었을 때 IL-10을 방출하도록 활성화되었지만, CD19-음성 Raji CD19ko 세포에서는 그렇지 않았으며, 이는 형질도입된 abTCR과 암 세포 상의 CD19 항원의 결합을 통해 Treg 세포가 특이적으로 활성화될 수 있다는 것을 가리킨다.

[0570] **실시예 8. 상이한 항체 중쇄 불변 도메인이 있는 abTCR이 형질도입된 T 세포의 생물학적 활성의 특성화**

[0571] 이전의 실시예에서, abTCR 구축물에서 사용된 항체 모이어티는 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 갖는 IgG1 CH1 도메인을 함유하였다. 다른 이뮤노글로불린 중쇄로부터의 CH1 도메인으로도 abTCR 디자인이 작동한다는 것을 입증하기 위해, IgG1 (서열식별번호: 39), IgG2 (서열식별번호: 60, 61, 또는 62), IgG3 (서열식별번호: 63), 또는 IgG4 (서열식별번호: 64)로부터의 CH1 도메인이 있는 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체를 기초로 하는 구축물을 사용하여 상기 기술된 바와 같이 표적-세포 사멸 검정법을 수행하였다. abTCR이 형질도입된 T 세포를 표면 발현의 지표로서의 AFP158 사량체 결합에 대해 검정하였고 (표 4), HepG2 (AFP+/HLA-A2+), SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+), 및 SK-HEP-1-AFP-MG (AFP 미니유전자가 형질도입된 SK-HEP-1) 세포를 사멸시키는 능력에 대해 테스트하였다. 특이적 용해를 16시간 인큐베이션 후에 사이톡스 96 비-방사성 세포독성 검정법 (프로메가)을 사용하여 측정하였다. 도 27에 나타난 바와 같이, 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티를 보유하는 abTCR 중 임의의 것이 형질도입된 T 세포가 항원-양성 세포주 HepG2 및 SK-HEP-1-AFP-MG의 사멸을 지시하였지만, 항원-음성 세포주 SK-HEP-1의 사멸에는 이르지 않았다. 중요하게, 비-IgG1 CH1 도메인을 함유하는 abTCR의 표면 발현이 IgG1 CH1을 함유하는 abTCR에 비교하여 더 낮았음에도 불구하고 (표 4 참조), 이들은 유사한 수준의 표적 세포 사멸을 초래하였으며, 이는 이들의 기능성 성질이 강화되었을 수 있음을 시사한다.

[0572] **표 4. abTCR 표면 발현**

abTCR	AFP158 사량체+ (퍼센트)
모의	0.3
IgG1	64.5
IgG2-0C	9.58
IgG2-1C	18.2
IgG2-2C	7.36
IgG3	13.6
IgG4	22.2

[0573]

[0574] **실시예 9. 공동-자극성 도메인을 함유하는 abTCR이 형질도입된 T 세포의 생물학적 활성의 특성화**

[0575] C-말단 공동-자극성 도메인을 포함하는 abTCR 디자인의 실현가능성을 입증하기 위해, CD28 및/또는 4-1BB로부터 유래된 공동-자극성 단편을 사용하여 다양한 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR 구축물을 디자인하였다 (도 28). abTCR은 서열식별번호: 36의 아미노산 서열을 함유하는 TCRɣ 키메라 서브유닛 및 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 함유하는 TCRδ 키메라 서브유닛으로 이루어졌다. CD28 공동-자극성 도메인이 있는 abTCR 서브유닛은 그의 C-말단에 서열식별번호: 70의 아미노산 서열이 융합되었고, 4-1BB 공동-자극성 도메인이 있는 서브유닛은 그의 C-말단에 서열식별번호: 71의 아미노산 서열이 융합되었다. abTCR 구축물을 J.RT3-R3.5 세포 내로 형질도입하고, abTCR 발현 및 CD3 표면 발현 구제를 유동 세포측정법을 사용하여 상기 기술된 바와 같이 검정하였다. 결과가 표 5에서 요약된다. abTCR의 발현 및 이들이 CD3 발현을 구제하는 능력이 공동-자극성 도메인의 존재 또는 부재 하의 다양한 abTCR 구축물들 사이에서 유사하였다. 또 다른 실시양태에서, 1차 T 세포에 abTCR 구축물을 형질도입하고, CD8 발현 및 AFP158 사량체 결합에 대해 유동 세포측정법으로 검정하였다 (표 6). abTCR이 형질도입된 1차 T 세포를 AFP158 사량체 결합 및 CD4 또는 CD8 발현에 대해 게이팅하고, CCR7, CD45RA, CD28, 및 그랜자임 B의 발현에 대해 유동 세포측정법으로 검정하였다 (표 7). 이러한 결과들은 바이러스 형질도입 및 형질도입된 T 세포의 분화가 공동-자극성 도메인의 존재 또는 부재 하의 다양한 abTCR 구축물들 사이에서 유사하였음을 나타낸다. 표적-세포 사멸 검정법을 abTCR 구축물을 사용하여 상기 기술된 바와 같이 수행하였다. abTCR이 형질도입된 T 세포를 HepG2 (AFP+/HLA-A2+), SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+), 및 SK-HEP-1-AFP-MG (AFP 미니유전자가 형질도입된된 SK-HEP-1) 세포를 사멸시키는 능력에 대해 검정하였다. 도 29에 나타난 바와 같이, 임의의 abTCR이 형질도입된 T 세포가 항원-양성 세포주 HepG2 및 SK-HEP-1-AFP-MG의 사멸을 지시하였지만, 항원-음성 세포주 SK-HEP-1의 사멸에는 이르지 않았다.

[0576] 공동-자극성 도메인을 함유하는 abTCR 구축물을 추가로 특성화하기 위해, 다양한 abTCR이 형질도입된 T 세포를 4개의 상이한 집단으로 게이팅하고 (CD8+/abTCR+; CD8+/abTCR-; CD4+/abTCR+; CD4+/abTCR-), HepG2, SK-HEP-1, 및 SK-HEP-1-AFP-MG 세포와의 인큐베이션 후에 T 세포 고갈 마커 PD-1, TIM-3, 및 LAG-3의 발현에 대해 유동 세포측정법에 의해 검정하였다. C-말단 공동-자극성 도메인을 함유하는 다양한 abTCR이 형질도입된 T 세포가 어떠한 공동-자극성 도메인도 결여된 abTCR이 형질도입된 T 세포에 비교하여 표적-양성 세포 HepG2 및 SK-HEP-1-AFP-MG에 의한 활성화 후에 유의하게 증가된 T 세포 고갈을 나타내지 않았다 (데이터는 제시되지 않음). 다양한 abTCR이 형질도입된 T 세포를 이들을 SK-HEP-1 및 SK-HEP-1-AFP-MG 세포와 함께 공동-인큐베이션함으로써 상기 기술된 바와 같은 시토카인 방출 검정법에서 사용하였다. 4개의 인간 시토카인 (IL-2, GM-CSF, IFN-ɣ, TNF-α)의 패널을 16시간 후에 측정하였다. 테스트된 모든 시토카인이 AFP^{+} SK-HEP-1-AFP-MG 세포와의 공동-인큐베이션 시 abTCR-형질도입 T 세포의 배지에서 검출되었지만, AFP^{-} SK-HEP-1 세포에서는 그렇지 않았다 (도 30). C-말단 공동-자극성 도메인을 함유하는 다양한 abTCR이 형질도입된 T 세포가 어떠한 공동-자극성 도메인도 결여된 abTCR이 형질도입된 T 세포에 비교하여 표적-양성 SK-HEP-1-AFP-MG 세포에 의한 활성화 후에 유의하게 증가된 시토카인 방출을 나타내지 않았고, 일부 경우에는 감소된 시토카인 방출을 나타냈다.

[0577] 표적-세포 사멸, T 세포 고갈, 및 시토카인 방출 실험을 상기 기술된 바와 같이 CD28 및/또는 4-1BB로부터 유래된 공동-자극성 단편을 사용하여 디자인된 항-CD19 abTCR 구축물을 사용하여 반복하였고, 이를 도 28에 도시한

다. abTCR은 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 함유하는 TCRγ 키메라 서브유닛 및 서열식별번호: 56의 아미노산 서열을 함유하는 TCRδ 키메라 서브유닛으로 이루어졌다. 항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR 구축물과 같이, 공동-자극성 도메인을 함유하는 항-CD19 abTCR이 형질도입된 T 세포가 어떠한 공동-자극성 도메인도 없는 항-CD19 abTCR 구축물이 형질도입된 T 세포과 유사하게 거동하였다 (도 31 및 32).

[0578] **표 5. abTCR 및 CD3 표면 발현**

abTCR	$abTCR^{+}/CD3^{-}$ (퍼센트)	$abTCR^{-}/CD3^{+}$ (퍼센트)	$abTCR^{+}/CD3^{+}$ (퍼센트)
모의	0.02	2.49	0.03
abTCR-6M	1.11	0.217	93.8
abTCR-6M-1	1.11	0.217	93.8
abTCR-6M-2	1.31	0.259	93.5
abTCR-6M-3	2.8	0.418	83.5
abTCR-6M-4	4.43	0.682	77.6
abTCR-6M-5	3.51	0.685	81.3
abTCR-6M-6	2.91	0.738	77.3
abTCR-6M-7	2.8	1.17	66.4
abTCR-6M-8	3.68	0.892	75.5

[0579]

[0580] **표 6. CD8 및 abTCR 표면 발현**

abTCR	$CD8^{+}$/사량체$^{+}$	$CD8^{-}$/사량체$^{+}$
모의	0.068	0.013
abTCR-6M	20.6	38.3
abTCR-6M-1	28.0	44.7
abTCR-6M-2	23.1	39.2
abTCR-6M-3	24.9	40.0
abTCR-6M-4	18.2	37.1
abTCR-6M-5	14.3	33.3
abTCR-6M-6	16.1	32.6
abTCR-6M-7	19.6	38.8
abTCR-6M-8	7.79	19.6

[0581]

[0582] **표 7. CD4+ 및 CD8+ abTCR T 세포 상에서의 CCR7, CD45RA, CD28 및 그랜자임 B 표면 발현**

abTCR	퍼센트 발현 (CD4+/사량체+-게이팅)			퍼센트 발현 (CD8+/사량체+-게이팅)		
	CD28	CCR7	그랜자임 B	CD28	CCR7	그랜자임 B
abTCR-6M	60	56	2.4	52	26.5	23.3
abTCR-6M-1	65.9	53.7	2.31	57.1	20.9	21.6
abTCR-6M-2	60.3	53.8	2.41	57.1	19.1	28.5
abTCR-6M-3	60.1	53.7	2.96	54.6	18.9	29.1
abTCR-6M-4	63	52.5	3.11	58.6	20.2	30.1
abTCR-6M-5	56.1	54	3.74	52.2	19.1	34.1
abTCR-6M-6	62.3	54.8	3.1	54.5	19	33.4
abTCR-6M-7	63	52.2	2.4	57.7	18.4	28.1
abTCR-6M-8	55.6	54.1	2.44	57.7	22.8	34.2

[0583]

[0584] **실시예 10. abTCR-형질도입 T 세포의 생체내 효능 연구**

[0585] *인간 간세포성 암종 이종이식 모델에서의 항-AFP158/HLA-A*02:01 항체에 대한 생체내 항종양 활성*

[0586] 항-AFP158/HLA-A*02:01 결합 모이어티를 함유하는 abTCR-6MD 구축물 (서열식별번호: 35 및 36)이 형질도입된 T 세포의 생체내 항종양 활성을 SCID-베이지 마우스에서 SK-HEP-1-AFP-MG의 피하 (s.c.) 모델을 사용하여 테스트하였다. SK-HEP-1-AFP-MG 세포를 마우스당 5 x 10^6개의 세포로 SCID-베이지 마우스의 오른쪽 옆구리에 s.c. 이식하였다. 평균 종양 부피가 100 mm^3에 도달했을 때, 종양 부피를 기초로 동물을 (i) 모의-형질도입 T 세포 및 (ii) abTCR-형질도입 T 세포가 제공되는 2개의 군 (군당 8마리의 마우스)으로 무작위화하였다. 무작위화 직후에 마우스당 10^7개의 모의 또는 abTCR-형질도입을 3회의 용량에 대해 2주마다 1회 정맥 내로 (i.v.) 주사함으로써 동물을 처리하였다. 마우스를 일반 건강 상태, 가능한 유해 반응 (존재하는 경우), 및 종양 부피의 변화에 대해 면밀하게 모니터링하였다. 모의 및 abTCR-형질도입 T 세포 둘 다 현재의 용량 및 일정에서 잘 허용되었다. 연구 전반에 걸쳐 투약-관련 체중 변화가 관찰되지 않았다 (도 33). 모의 또는 abTCR-형질도입 T 세포의 i.v. 투여 후 SK-HEP-1-AFP-MG 종양이 계속 성장하였지만, abTCR-형질도입 T 세포로 처리된 종양의 성장 속도가 모의 T-처리 종양에 비교하여 더 느렸다. 도 34a에 나타난 바와 같이, 종양 성장 곡선의 분리가 투약 개시 20일 후에 시작되었다. 제31일에, abTCR-형질도입 T 세포로 처리된 종양에서의 23% 성장 억제가 관찰되었다 (t 검정, p=0.018).

[0587] abTCR-형질도입 T 세포의 항종양 활성을 더 큰 SK-HEP-1-AFP-MG s.c. 종양에서 추가로 평가하였다. SK-HEP-1-AFP-MG 종양-보유 마우스의 연구에서, 평균 종양 부피가 300 mm^3에 도달했을 때 동물들을 2개의 군으로 무작위화하였다 (n=군당 4마리의 마우스). 동물들에게 처리를 제공하지 않거나 또는 마우스당 10^7개의 abTCR-형질도입 T 세포단일 종양내 (i.t.) 주사를 제공하였다. 도 34b에 나타난 바와 같이, abTCR-형질도입 T 세포의 i.t. 전달이 시간에 따른 종양 부피의 변화에 의해 측정된 바와 같이 대형 SK-HEP-1-AFP-MG 종양의 성장을 느리게 하였다. 미처리 대형 SK-HEP-1-AFP-MG 종양과 abTCR-형질도입 T 세포-처리 대형 SK-HEP-1-AFP-MG 종양 사이의 곡선하 면적 비교는 2개의 군 사이의 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다 (양측 t 검정, p=0.04). 총괄적으로, abTCR-형질도입 T 세포의 i.v. 및 i.t. 투여 둘 다가 SK-HEP-1-AFP-MG의 확립된 s.c. 이종이식편의 성장을 유의하게 억제하였다.

[0588] *림프종 이종이식 모델에서의 항-CD19 항체에 대한 생체내 항종양 활성*

[0589] 예시적인 항-hCD19 항체 결합 모이어티가 있는 CAR 및 abTCR이 형질도입된 T 세포의 생체내 항종양 활성을 NOD SCID 감마 (NSG) 마우스에서의 CD19 양성 인간 림프종 이종이식 모델에서 테스트한다. Raji-luc-GFP 세포를 컴패러티브 바이오사이언시즈, 인크.(Comparative Biosciences, Inc.) (캘리포니아주 94085 서니베일)로부터 구입하고, 5% CO2의 습식 대기에서 37℃로 RPMI 배지+10% FBS 및 1% L-글루타민에서 배양한다. Raji-luc-GFP 세

포는 초파리 루시페라제 (luc) 및 녹색 형광 단백질 둘 다를 코딩하는 이중 리포터 유전자의 안정적인 형질감염 후에 CD19-양성 버킷 림프종 세포주인 Raji로부터 유래되어, 생체발광 영상화를 사용하여 생체내에서 추적될 수 있는 세포를 초래한다. NSG 마우스를 잭슨 래버러토리즈(Jackson Laboratories) (미국 04609 메인주 바 하버)로부터 구입하고, 실험 전에 적어도 7일 동안 순응시킨다. Raji-luc-GFP 세포를 PBS에 재현탁시키고, 1 x 10^6개의 세포/100 μl/마우스로 꼬리 정맥을 통해 NSG 마우스 내로 정맥내 (i.v.) 이식한다. 종양 이식 5일 후, 동물을 종양 부하 평가를 위해 제노젠(Xenogen) IVIS 영상화 시스템을 사용하여 영상화한다. 광자 방출을 기초로 평균 광자 방출이 6.7 x 10^5개의 광자일 때 마우스를 하기의 4개의 군으로 무작위화한다 (n= 군당 6마리의 마우스): (i) 처리하지 않음, (ii) 모의-형질도입 인간 T 세포, (iii) 항-CD19 CAR-T 처리 및 (iv) 항-hCD19 abTCR T 세포 처리. 동물들을 무작위화 직후에 3회의 용량에 대해 2주마다 1회 마우스당 10^7개의 세포의 용량으로 모의 또는 항-CD19 CAR-T 세포로 i.v. 처리한다.

[0590] 투약 후에 동물들을 면밀하게 모니터링한다. 제노젠 IVIS 시스템을 사용하는 생체발광 영상화를 8주까지 1주에 1회 촬영한다.

[0591] 상기 기술된 바와 같이 동물 연구를 수행하여 항-CD19 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포의 생체내 항종양 능력을 평가하였다.

[0592] 6-8주령 암컷 NSG 마우스를 이러한 연구에서 사용하였다. Raji-luc-GFP 세포주를 5% CO2의 습식 대기에서 37℃로 RPMI 배지+10% FBS 및 1% L-글루타민에서 배양하였다. Raji-luc-GFP 세포를 PBS에 재현탁시키고, 1 x 10^6개의 세포/100 μl/마우스로 40마리의 NSG 마우스 내로 i.v. 이식하였다.

[0593] 종양 이식 4일 후, 종양 성장을 확인하기 위해 마우스를 이비스 스펙트럼(Ivis Spectrum)을 사용하여 영상화하였다. 그 후, 마우스를 광자 방출을 기초로 하기의 처리를 위한 6개의 군으로 무작위화하였다 (n= 6마리의 마우스/군): 1) 비히클 (PBS); 2) 모의 (8x10^6개의 모의-형질도입 T 세포); 3) 클론 5 abTCR (서열식별번호: 42 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 클론 5 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 8x10^6개의 T 세포); 4) 클론 5-3 abTCR (서열식별번호: 42 및 43의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 클론 5-3 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 8x10^6개의 T 세포); 5) 클론 5-9 abTCR (서열식별번호: 55 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 클론 5-9 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 8x10^6개의 T 세포); 및 6) 클론 5-13 abTCR (서열식별번호: 56 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 클론 5-13 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 8x10^6개의 T 세포).

[0594] 종양 이식 및 8백만개의 수용체-양성 T 세포의 투약 후에 동물을 면밀하게 모니터링하였다. 연구 기간 동안 1주에 2회 동물을 칭량하고 제노젠 영상화를 수행하였다. 하기의 상태를 나타내는 동물을 안락사시키고, "조건부 사멸"으로 기록하였다: a) 급성 유해 반응: 호흡 곤란, 떨림, 수동적 행동 (식욕 상실 및 무기력); b) 초기 체중의 25%를 초과하는 체중 감소; 및 c) 마우스 운동에 영향을 미치는 사지 마비.

[0595] 이러한 실험의 결과가 도 35에서 도시되며, 이는 종양으로부터의 총 플럭스 방출 대 abTCR 세포 또는 대조군 투약 후의 일수를 플롯팅한다. 4개 모두의 CD19-abTCR T 세포가 생체내에서 CD19 양성 Raji 종양을 표적화하여 용해시켰으며, 이는 abTCR 플랫폼 내의 항-CD19 항체가 종양 성장을 억제하는 효능을 입증한다.

[0596] 또 다른 실시양태에서, 종양이 이식되지 않은 NSG 마우스를 동일한 결합 서열이 있는 항-CD19 abTCR-6MD 또는 항-CD19 CAR이 형질도입된 8x10^6개의 T 세포로 처리하고, 생체내에서의 이러한 형질도입된 T 세포의 효과를 비교하였다. 항-CD19 CAR T 세포로 처리된 마우스는 24시간 이내에 사멸한 한편, 항-CD19 abTCR T 세포로 처리된 마우스는 5주 후에 생존하였다. 이러한 결과는 abTCR 구축물을 발현하는 T 세포가 CAR을 발현하는 것보다 더 안전하다는 것을 가리킨다.

[0597] 항-CD19 abTCR 및 항-CD19 CAR의 비교

[0598] Raji B-세포 림프종 Raji-luc-GFP 세포를 상기 기술된 바와 같이 NSG 마우스 내로 이식하였다. 그 후, 주사 샘플당 8마리의 마우스의 군에서 클론 5-13 abTCR-6MD (서열식별번호: 56 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 클론 5-13 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD)가 형질도입된 5 x 10^6개의 $abTCR^+$ T 세포, 클론 5-13 CAR (항-CD19 클론 5-13 결합 모이어티가 있는 CAR)이 형질도입된 5 x 10^6개의 CAR^+ T 세포, 또는 5 x 10^6개의 모의 T

세포를 마우스에 주사하였다. T 세포 이식 24시간 후에 혈청을 수집하고, 혈청 내의 인간 시토카인의 농도를 상기 기술된 바와 같이 루미넥스 매그픽스 기계를 사용하여 측정하였다. 시토카인 측정 결과가 도 36에서 제시된다. 이전에 기술된 바와 같이 루시페라제 활성에 의해 종양 부하를 측정하였고, 결과가 도 37 (정량화) 및 27 (영상화)에서 제시된다.

[0599] 클론 5-13 CAR과 클론 5-13 abTCR T 세포 사이의 헤드 투 헤드 비교에서, 마우스 내로 주사된 abTCR T 세포가 초기 시점에 CAR T 세포에 비교하여 급속한 종양 퇴행을 초래한 한편, CAR T 세포가 주사된 마우스는 약 5일 이후까지 종양 퇴행을 나타내지 않았다. 이러한 실험 과정 전반에 걸쳐, 클론 5-13 abTCR T 세포가 클론 5-13 CAR T 세포보다 더 높은 생체내 종양 억제 효능을 나타냈다. 24시간의 시토카인 측정 결과는 클론 5-13 abTCR T 세포로 처리된 마우스가 CAR T 세포-처리 마우스보다 시토카인 분비 수준 또한 감소되었음을 가리킨다. 이러한 결과들은 항종양 효능이 시토카인의 과다생산을 필요로 하지 않는다는 증거를 제공하는데, abTCR T 세포가 CAR T 세포보다 종양 억제 효능이 더 높지만 시토카인-분비 효과는 더 낮기 때문이다.

[0600] 종양 이식 7주 후에, 클론 5-13 abTCR T 세포로 처리된 마우스는 검출가능한 종양이 없었다. 이러한 시점에, 모의 T 세포로 처리된 군으로부터의 3마리의 마우스 및 클론 5-13 abTCR T 세포로 처리된 군으로부터의 3마리의 마우스에 5 x 10^5개의 Raji 림프종 세포를 i.v. 이식으로 재-챌린지하였다. 이전에 기술된 바와 같이 루시페라제 활성에 의해 종양 부하를 측정하였고, 결과가 도 39에서 제시된다. 모의 T 세포로 처리된 군으로부터의 마우스에서는 종양이 급속하게 성장한 한편, 클론 5-13 abTCR-형질도입 T 세포로의 사전 처리는 Raji 림프종 세포 이식으로 재-챌린지한 후에 종양 성장을 방지하였으며, 이는 abTCR-형질도입 T 세포가 지속되었고 항원에 반응하는 능력을 유지하였음을 가리킨다.

[0601] 또 다른 실시양태에서, 5 x 10^6개의 클론 5-3 abTCR-6MD (서열식별번호: 42 및 43의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 클론 5-3 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD) T 세포 또는 5 x 10^6개의 클론 5-3 CAR (항-CD19 클론 5-3 결합 모이어티가 있는 CAR, 서열식별번호: 44) T 세포를 주사하고 나서 24시간 후에 NSG 마우스로부터 혈청을 수집하였다. 마우스 혈청 내의 시토카인 농도를 상기 기술된 바와 같이 측정하였다. 높은 수준의 T 세포-유래 인간 시토카인 및 마우스-유래 IL-6이 클론 5-3 CAR T 세포로 처리된 마우스에서 발견되었다. 대조적으로, 클론 5-3 abTCR로 처리된 마우스는 극적으로 더 낮은 혈청 시토카인 수준을 나타냈고 (데이터는 제시되지 않음), 이는 abTCR T 세포에 대한 시토카인 과다생산에 대한 감소된 효과의 추가 증거를 제공한다.

[0602] *백혈병 이종이식 모델에서의 항-CD19 항체에 대한 생체내 항종양 활성*

[0603] 예시적인 항-hCD19 항체 결합 모이어티를 함유하는 CAR 또는 abTCR이 형질도입된 T 세포의 생체내 항종양 활성을 NSG 마우스에서의 CD19 양성 인간 백혈병 이종이식 모델에서 테스트하였다. NALM-6-luc-GFP 세포는 메모리얼 슬로안 케터링 캔서 센터(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)의 에릭 스미스(Eric Smith)의 실험실로부터의 증정품이었고, 이를 5% CO2의 습식 대기에서 37℃로 RPMI 배지+10% FBS에서 배양하였다. NALM-6-luc-GFP 세포는 초파리 루시페라제 (luc) 및 녹색 형광 단백질 둘 다를 코딩하는 이중 리포터 유전자의 안정적인 형질감염 후에 CD19-양성 급성 림프모구 백혈병 세포주인 NALM-6로부터 유래되어, 생체발광 영상화를 사용하여 생체내에서 추적될 수 있는 세포를 초래한다. NSG 마우스를 잭슨 래버러토리즈 (미국 04609 메인주 바 하버)로부터 구입하고, 실험 전에 적어도 3일 동안 순응시켰다. NALM-6-luc-GFP 세포를 PBS에 재현탁시키고, 5 x 10^5개의 세포/100 μl/마우스로 꼬리 정맥을 통해 30마리 6-8주령 암컷 NSG 마우스 내로 정맥내 (i.v.) 이식하였다. 종양 이식 4일 후, 동물을 종양 부하 평가를 위해 제노젠 IVIS 영상화 시스템을 사용하여 영상화하였다. 광자 방출을 기초로 마우스를 하기의 4개의 군으로 무작위화하였다: (i) 비히클, PBS 단독 (n= 6마리의 마우스); (ii) 10 x 10^6개의 모의-형질도입 인간 T 세포 (n= 6마리의 마우스); (iii) 5 x 10^6개의 클론 5-13 CAR T 세포 (항-CD19 클론 5-13 결합 모이어티가 있는 CAR이 형질도입된 T 세포) (n= 8마리의 마우스); 및 (iv) 5 x 10^6개의 클론 5-13 abTCR-6MD T 세포 (서열식별번호: 56 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD19 클론 5-13 결합 모이어티가 있는 abTCR-6MD가 형질도입된 T 세포) (n= 8마리의 마우스).

[0604] 종양 이식 및 수용체-양성 T 세포의 투약 후에 동물을 면밀하게 모니터링하였다. 연구 기간 동안 1주에 2회 동물을 칭량하고 제노젠 영상화를 수행하였다. 하기의 상태를 나타내는 동물을 안락사시키고, "조건부 사멸"으로 기록하였다: a) 급성 유해 반응: 호흡 곤란, 떨림, 수동적 행동 (식욕 상실 및 무기력); b) 초기 체중의 25%를 초과하는 체중 감소; 및 c) 마우스 운동에 영향을 미치는 사지 마비.

[0605] 이러한 실험의 결과가 도 40에서 도시되며, 이는 각각의 치료 군에 대한 평균 종양-유래 총 플럭스 방출 대 처

리 후의 일수를 플롯팅한다. 클론 5-13 abTCR T 세포 및 클론 5-13 CAR T 세포 둘 다가 생체내에서 CD19 양성 NALM-6 종양을 표적화하여 용해시켰으며, 이는 다중 암 모델에서 abTCR 플랫폼 내의 항-CD19 항체가 종양 성장을 억제하는 효능을 입증한다.

[0606] 처리 24시간 후에, 시토카인 측정을 위해 군당 3마리의 마우스로부터 혈액을 수집하였고, 결과가 도 41에서 제시된다. 림프종 이종이식 모델과 같이, 이러한 백혈병 이종이식 모델에서의 항-CD19 abTCR T 세포로의 처리가 항-CD19 CAR T 세포로의 처리보다 더 낮은 수준의 시토카인 분비를 초래하였다.

[0607] 처리 7일 후 및 13일 후에, 각각의 군으로부터의 대표 마우스로부터 혈액을 수집하고, 아피메트릭스 이바이오사이언스, 인크.(Affymetrix eBioscience, Inc.)로부터의 "123카운트 이비즈(123count eBeads)" 키트를 사용하여 유동 세포측정법으로 분석하여, 혈액 1 μl당 CD3+ T 세포, CAR/abTCR-발현 T 세포 및 종양 세포의 개수, 및 T 세포 상에서의 PD-1 발현의 수준을 결정하였다. 처리 13일 후, 군당 2마리의 마우스를 안락사시키고, 골수 추출물을 CD3+/CAR/abTCR T 세포, 종양 세포의 존재, 및 T 세포 상에서의 PD-1 발현 수준에 대해 유동 세포측정법으로 분석하였다.

[0608] 투여 후 제7일 및 제13일 둘 다에 CAR T 세포가 투여된 마우스에 대해 관찰된 것보다 abTCR T 세포가 투여된 마우스가 그의 혈액 내의 키메라 수용체-발현 T 세포의 수준이 더 높았고 (도 42), 이는 abTCR T 세포가 이러한 모델에서 그의 대응물 CAR T 세포보다 생육력 및/또는 증식 수준이 더 높았다는 것을 가리킨다. 도 43 및 44에 나타난 바와 같이, CAR T 세포 또는 abTCR T 세포로 처리된 마우스가 처리 13일 후에 비히클- 및 모의-처리 대조군 동물에 비교하여 말초 혈액 및 골수 둘 다에서 종양 세포의 감소 (FITC 염색에 의해 지시됨)를 나타냈지만, 말초 혈액 및 골수 둘 다에서의 종양 세포 감소가 abTCR T 세포로 처리된 동물에 대해 더 컸다. 도 45 및 46에 나타난 바와 같이, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T 세포 둘 다에 대해서, 말초혈 및 골수 둘 다로부터의 T 세포의 표면 상의 T 세포 고갈 마커 PD-1의 발현 수준이 abTCR T 세포로 처리된 마우스에서 CAR T 세포로 처리된 것보다 더 낮았고, 모의-처리 마우스에서 관찰된 수준에 필적하였다. 이러한 결과는 abTCR-발현 T 세포가 CAR-발현 T 세포보다 고갈될 가능성이 더 적을 수 있다는 것을 시사한다.

서열 목록

[0609]

SEQ ID NO	설명	서열
1	TCRα 막횡단 도메인	ILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
2	TCRβ 막횡단 도메인	TILYEILLGKATLYAVLVSALVL
3	TCRδ 막횡단 도메인	MLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
4	TCRγ 막횡단 도메인	YYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLL
5	TCRα 연결 펩티드	ESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFR
6	TCRβ 연결 펩티드	ADCGFTSVSYQQGVLSA
7	TCRδ 연결 펩티드	DHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLR
8	TCRγ 연결 펩티드	MDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
9	TCRα 연결 펩티드 MD	IPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFR
10	TCRβ 연결 펩티드 MD	GRADCGFTSVSYQQGVLSA
11	TCRδ 연결 펩티드 MD	EVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLR
12	TCRγ 연결 펩티드 MD	PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
13	TCRβ 세포내 도메인	MAMVKRKDF
14	TCRγ 세포내 도메인	RRTAFCCNGEKS
15	TCRD 알파	ESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
16	TCRD 베타	ADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKR

		KDF
17	TCRD 알파 MD	IPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGF NLLMTLRLWSS
18	TCRD 베타 MD	GRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMV KRKDF
19	TCRD 델타	DHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFA KTVAVNFLLTAKLFFL
20	TCRD 감마	MDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCL LRRTAFCCNGEKS
21	TCRD 델타 MD	EVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLG LRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
22	TCRD 감마 MD	PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVY FAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
23	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 알파	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCESSCDVKLVEKS FETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
24	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 베타	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSADCGFTSVSYQQGVLSA TILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
25	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 알파	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSESSCDVKLVEKSFETDT NLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
26	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 베타	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG

[0610]

		TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCADCGFTSVSYQQ GVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
27	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD 알파	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSIPEDTFFPSPESSCDVKLV EKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
28	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD 베타	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCGRADCGFTSVSY QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
29	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5 델타	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDHVKPKETENTKQPSKS CHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
30	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5 감마	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCMDPKDNCSKDA NDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEK S
31	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD 델타	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSEVKTDSTDHVKPKETEN TKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTA

[0611]

		KLFFL
32	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD 감마	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
33	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6 델타	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
34	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6 감마	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
35	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD 델타	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
36	항-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD 감마	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNG

[0612]

		EKS
37	항-AFP158/HLA-A*02:01-scFv CAR	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQS GAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDP GDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARY YVSLVDIWGQGTLVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKH LCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLL HSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR
38	항-AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgVH 도메인	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSS
39	IgG1 CH1 도메인	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSC
40	AFP158/HLA-A*02:01 항체의 IgVL 도메인	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVL
41	IgCL 도메인	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADG SPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
42	항-CD19-abTCR-6MD 델타	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLT VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
43	항-CD19-abTCR-6MD 감마	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SEYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD

[0613]

		FYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKD ANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGE KS
44	항-CD19-scFv CAR	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SEYVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSG AEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG DSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQV WGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSSAAAIEVMYPPPYL DNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLV TVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFA AYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
45	항-CD19 항체의 IgVH 도메인	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSS
46	항-CD19 항체의 IgVL 도메인	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SEYVVFGGGTKLTVL
47	CD28의 단편	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHY QPYAPPRDFAAYRS
48	CD3-제타의 단편	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
49	신호 펩티드	METDTLLLWVLLLWVPGSTG
50	HA 태그	YPYDVPDYA
51	3x Flag 태그	DYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
52	myc 태그	EQKLISEEDL
53	AFP158	FMNKFIYEI
54	항-CD19 클론 5	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS

[0614]

	abTCR-6MD 감마	SDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKD ANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGE KS
55	항-CD19 클론 5-9 abTCR-6MD 델타	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPFFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLT VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
56	항-CD19 클론 5-13 abTCR-6MD 델타	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLT VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
57	항 -CD19 항체 클론 5의 IgVL 도메인	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDYVVFGGGTKLTVL
58	항-CD19 항체 클론 5-9의 IgVH 도메인	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPFFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSS
59	항-CD19 항체 클론 5-13의 IgVH 도메인	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSS
60	IgG2-0C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVERK
61	IgG2-1C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVERKC

[0615]

62	IgG2-2C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVERKCC
63	IgG3 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKV DKRVELKTP
64	IgG4 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYG
65	IgA1 CH1	ASPTSPKVFPLSLCSTQPDGNVVIACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQGV TARNFPPSQDASGDLYTTSSQLTLPATQCLAGKSVTCHVKHYTNPSQ DVTVPCPVPSTPPTPSPSTPPTPSPS
66	IgA2 CH1	ASPTSPKVFPLSLDSTPQDGNVVVACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQN VTARNFPPSQDASGDLYTTSSQLTLPATQCPDGKSVTCHVKHYTNPS QDVTVPCPVPPPPP
67	IgD CH1	APTKAPDVFPIISGCRHPKDNSPVVLACLITGYHPTSVTVTWYMGTQ SQPQRTFPEIQRRDSYYMTSSQLSTPLQQWRQGEYKCVVQHTASKS KKEIFRWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGE EKKKEKEKEEQEERETKTP
68	IgE CH1	ASTQSPSVFPLTRCCKNIPSNATSVTLGCLATGYFPEPVMVTWDTGS LNGTTMTLPATTLTLSGHYATISLLTVSGAWAKQMFTCRVAHTPSS TDWVDNKTFS
69	IgM CH1	GSASAPTLFPLVSCENSPSDTSSVAVGCLAQDFLPDSITLSWKYKNNS DISSTRGFPSVLRGGKYAATSQVLLPSKDVMQGTDEHVVCKVQHPN GNKEKNVPLP
70	CD28 공동-자극성 단편	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
71	4-1BB 공동-자극성 단편	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
72	항-NY-ESO-1/HLA-A*02:01 항체 클론 35의 IgVH 도메인	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYSISWVRQAPGQGLE WMGRIIPILGIANYAQKYQGRVTLSADKSTSTSYMELNSLRSEDTAV YYCARDWSYSIDYWGQGTLVTVSS
73	항-NY-ESO-1/HLA-	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKL

[0616]

	A*02:01 항체 클론 35의 IgVL 도메인	LIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDS SLSAWVFGGGTKLTVLG
74	scFv 링커	SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA
75	항-CD19-cTCR 델타	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSRSQPHT KPSVFVMKNGTNVACLVKEFYPKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSG KYNAVKLGKYEDSNSVTCSVQHDNKTVHSTDFEVKTDSTDHVKPK ETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNF LLTAKLFFL
76	항-CD19-cTCR 감마	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDYVVFGGGTKLTVLGDKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYL CLLEKFFPDVIKIHWQEKKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTV PEKSLDKEHRCIVRHENNKNGVDQEIIFPPIKTDVITMDPKDNCSKDA NDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEK S
77	TCRα 불변 도메인	PNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITD KTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPES SCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWS S
78	TCRβ 불변 도메인	EDLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWV NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH FRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSY QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
79	TCRδ 불변 도메인	SQPHTKPSVFVMKNGTNVACLVKEFYPKDIRINLVSSKKITEFDPAIV ISPSGKYNAVKLGKYEDSNSVTCSVQHDNKTVHSTDFEVKTDSTDH VKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTV AVNFLLTAKLFFL
80	TCRγ 불변 도메인	DKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYLCLLEKFFPDVIKIHWQE KKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTVPEKSLDKEHRCIVRHEN NKNGVDQEIIFPPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYM YLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS

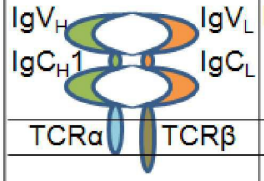
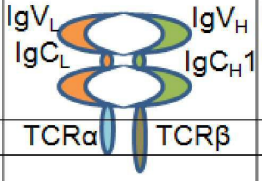
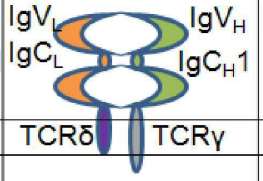
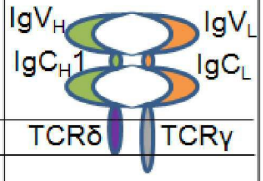
[0617]

81	항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 델타	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSRSQPHTKPSVFVMKNGTNVA CLVKEFYPKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSGKYNAVKLGKYEDSNS VTCSVQHDNKTVHSTDFEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPK AIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
82	항-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 감마	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLDKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYL CLLEKFFPDVIKIHWQEKKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTV PEKSLDKEHRCIVRHENNKNGVDQEIIFPPIKTDVITMDPKDNCSKDA NDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEK S

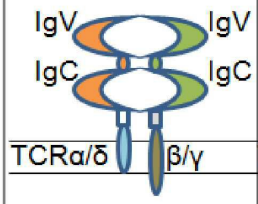
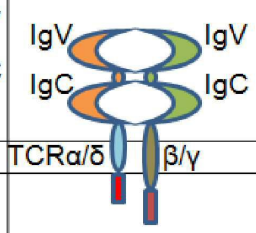
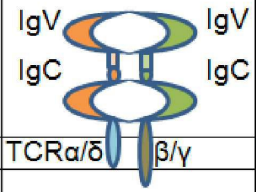
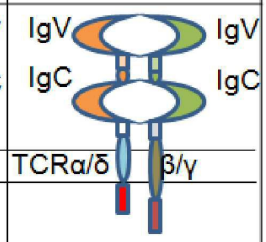
[0618]

도면

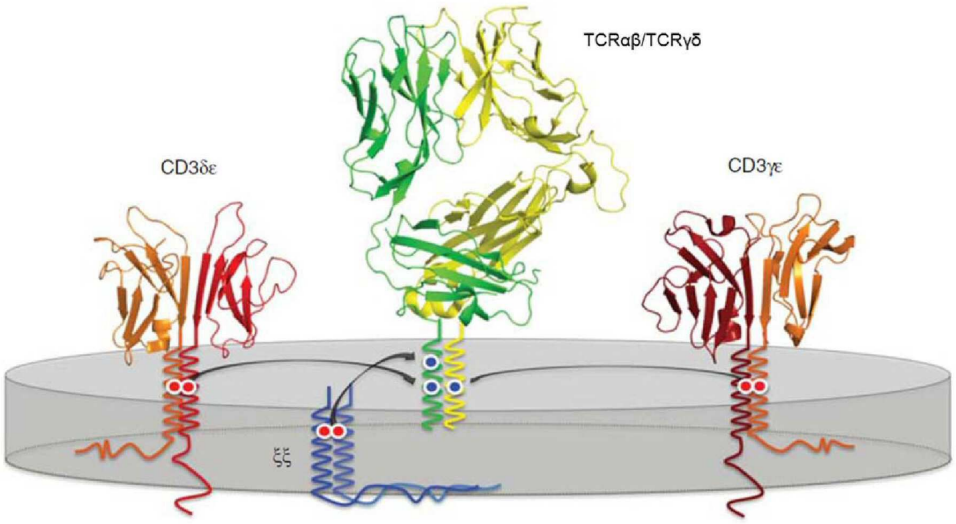
도면1a

abTCR-3	abTCR-4	abTCR-5	abTCR-6
			

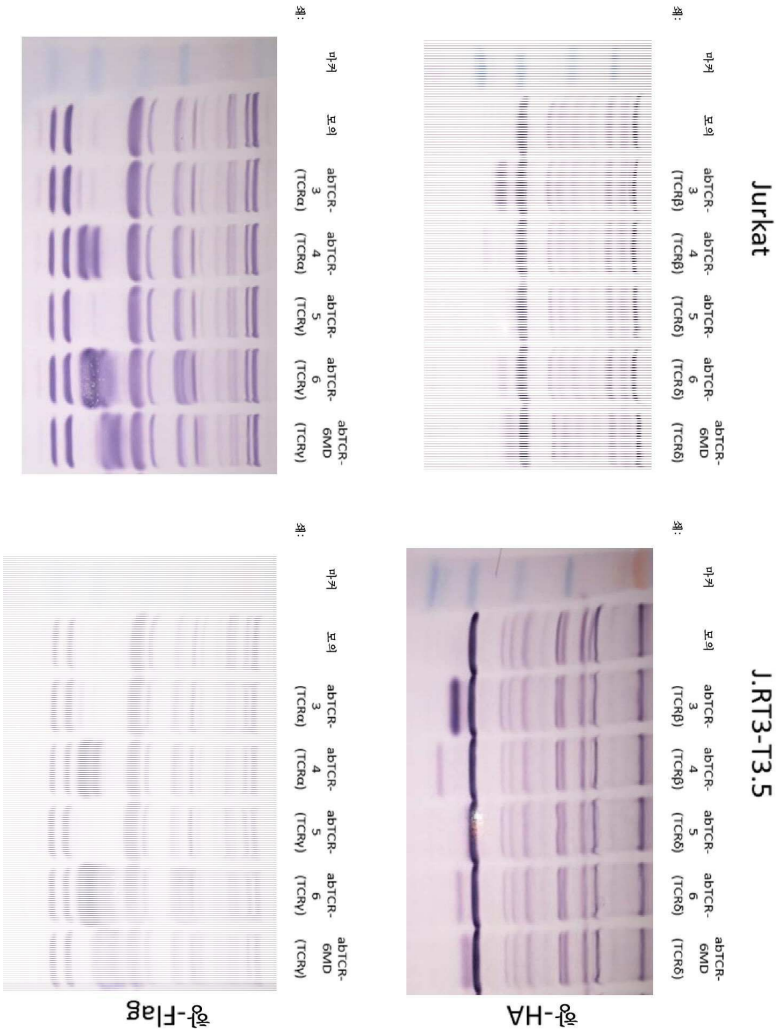
도면1b

TM과 IgC 사이의 거리를 연장하기 위한 추가적인 링커, 또는 감소시키기 위한 결실	추가적인 세포내 이펙터 도메인(들)	링커 변형, 또는 Ig 도메인들 사이의 거리를 연장하기 위한 추가적인 잔기	변이의 임의의 조합 또는 순열
			

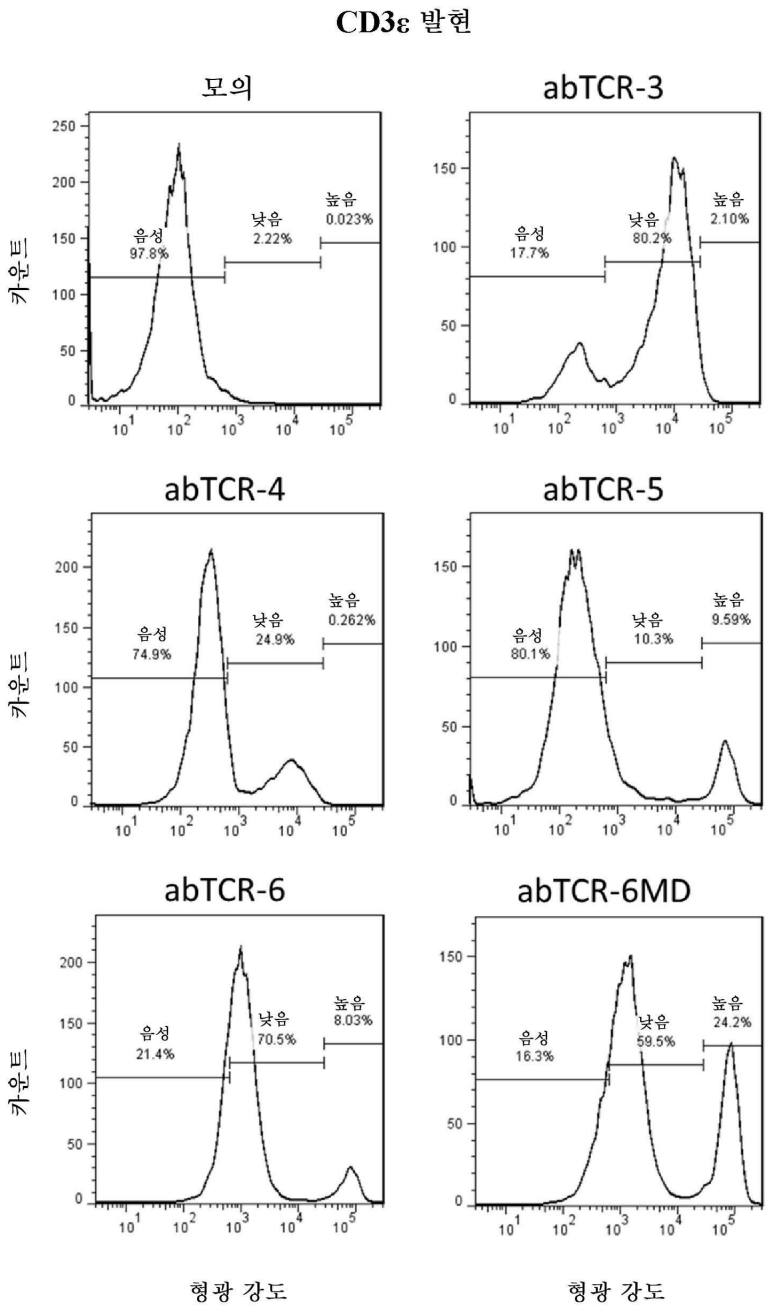
도면2



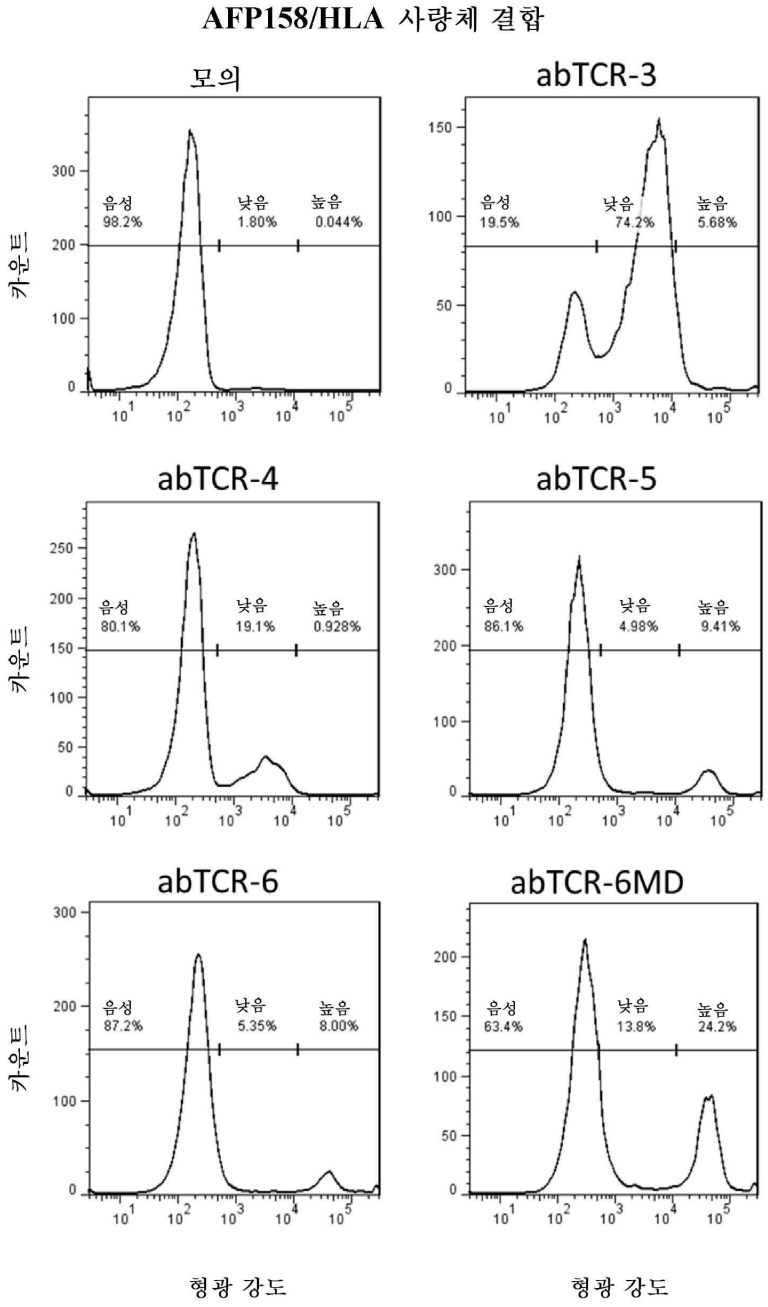
도면3


Jurkat
J.RT3-T3.5
항-HA
항-Flag
색:
마커
모의
abTCR-3 (TCRβ)
abTCR-4 (TCRα)
abTCR-5 (TCRγ)
abTCR-6 (TCRδ)
abTCR-6MD (TCRδ)

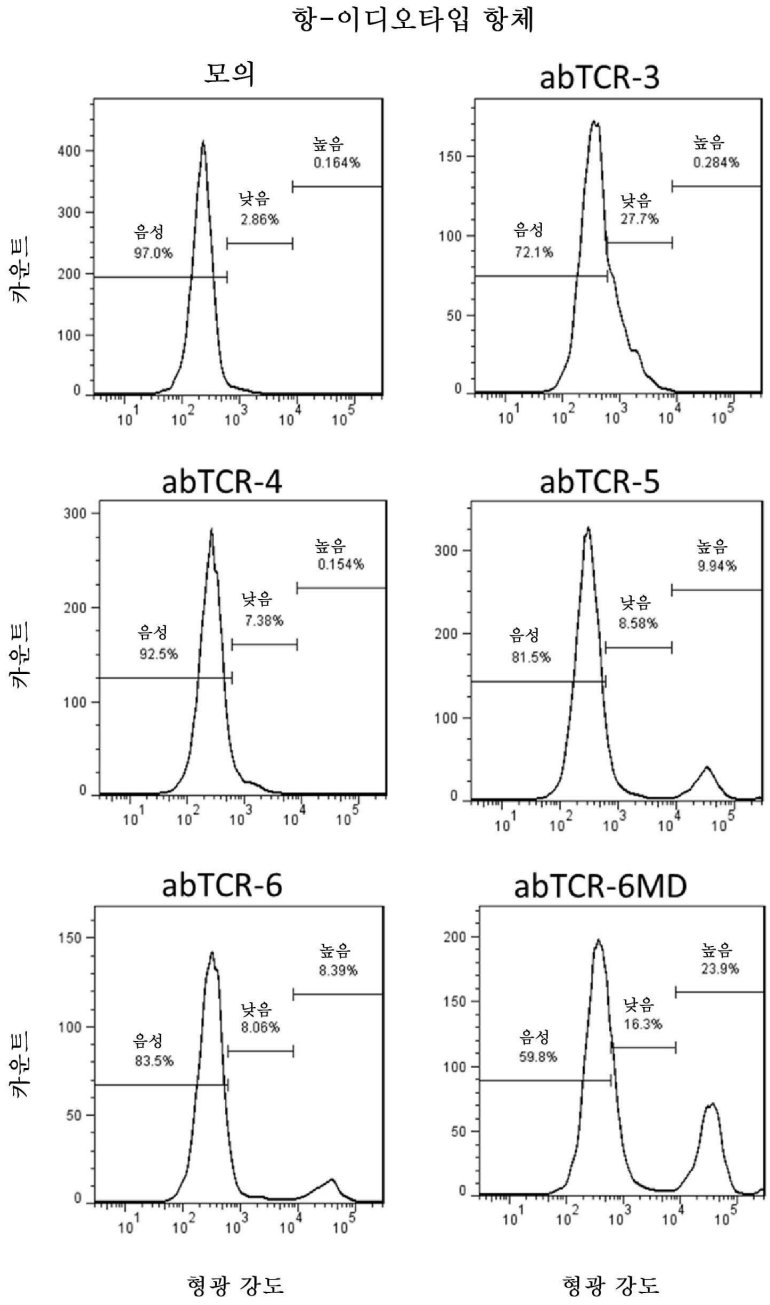
도면4a


CD3ε 발현
모의
음성
97.8%
낮음
2.22%
높음
0.023%
abTCR-3
음성
17.7%
낮음
80.2%
높음
2.10%
abTCR-4
음성
74.9%
낮음
24.9%
높음
0.262%
abTCR-5
음성
80.1%
낮음
10.3%
높음
9.59%
abTCR-6
음성
21.4%
낮음
70.5%
높음
8.03%
abTCR-6MD
음성
16.3%
낮음
59.5%
높음
24.2%
카운트
형광 강도
형광 강도

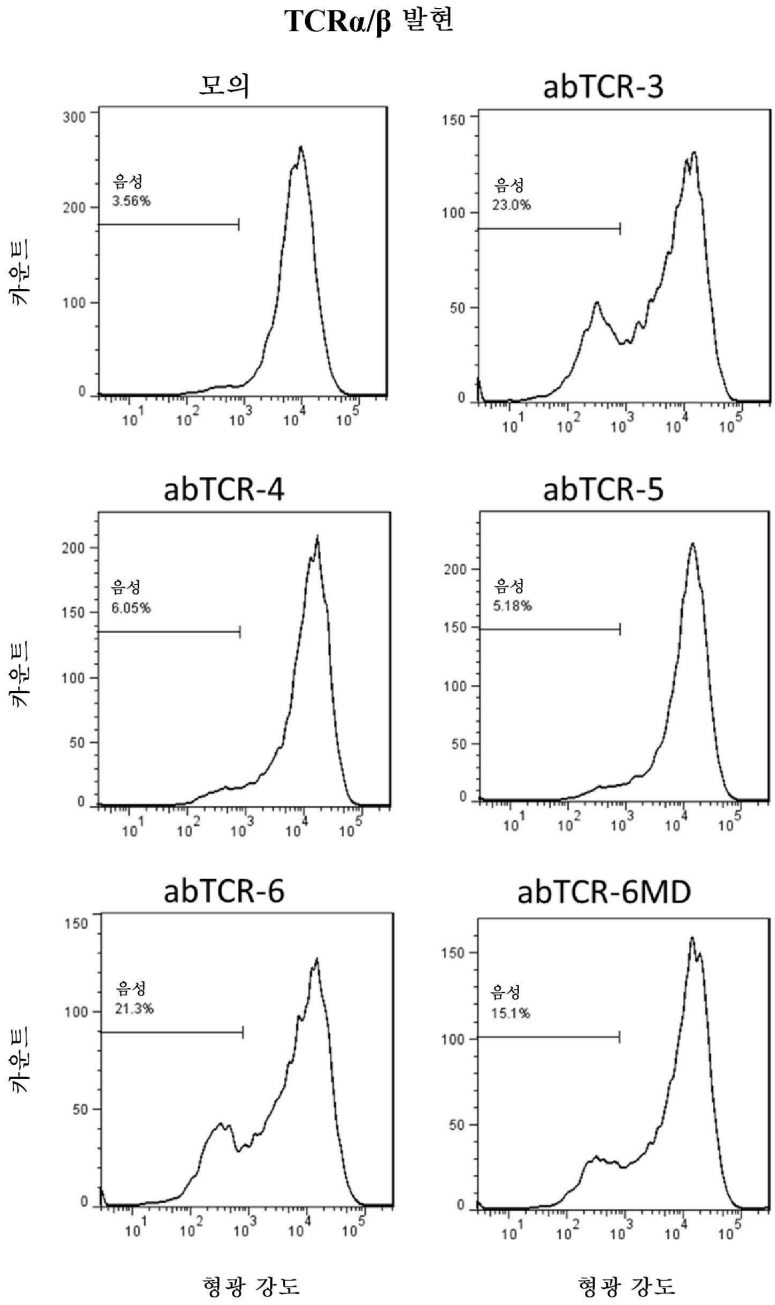
도면4b


AFP158/HLA 사량체 결합
모의
음성 98.2%
낮음 1.80%
높음 0.044%
abTCR-3
음성 19.5%
낮음 74.2%
높음 5.68%
abTCR-4
음성 80.1%
낮음 19.1%
높음 0.928%
abTCR-5
음성 86.1%
낮음 4.98%
높음 9.41%
abTCR-6
음성 87.2%
낮음 5.35%
높음 8.00%
abTCR-6MD
음성 63.4%
낮음 13.8%
높음 24.2%
카운트
형광 강도
형광 강도

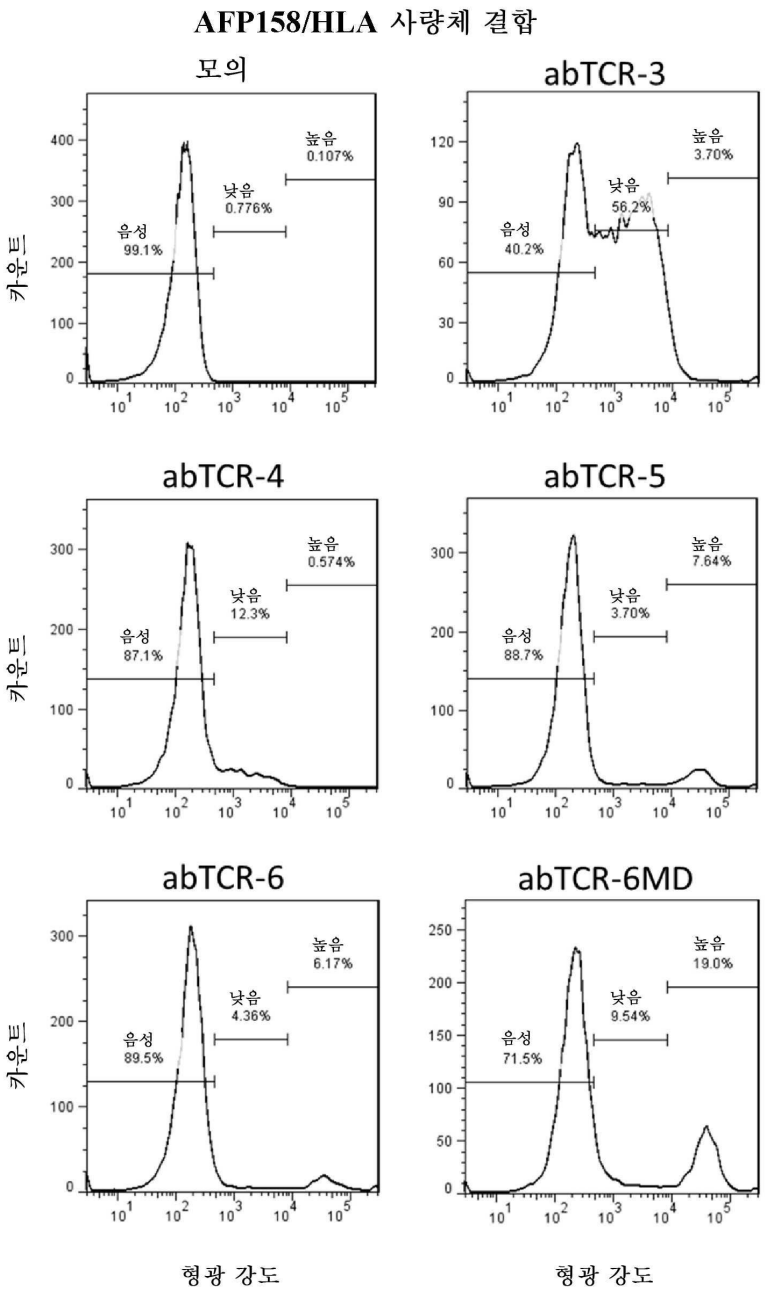
도면4c


항-이디오타입 항체
모의
음성
97.0%
낮음
2.86%
높음
0.164%
abTCR-3
음성
72.1%
낮음
27.7%
높음
0.284%
abTCR-4
음성
92.5%
낮음
7.38%
높음
0.154%
abTCR-5
음성
81.5%
낮음
8.58%
높음
9.94%
abTCR-6
음성
83.5%
낮음
8.06%
높음
8.39%
abTCR-6MD
음성
59.8%
낮음
16.3%
높음
23.9%
카운트
형광 강도
형광 강도

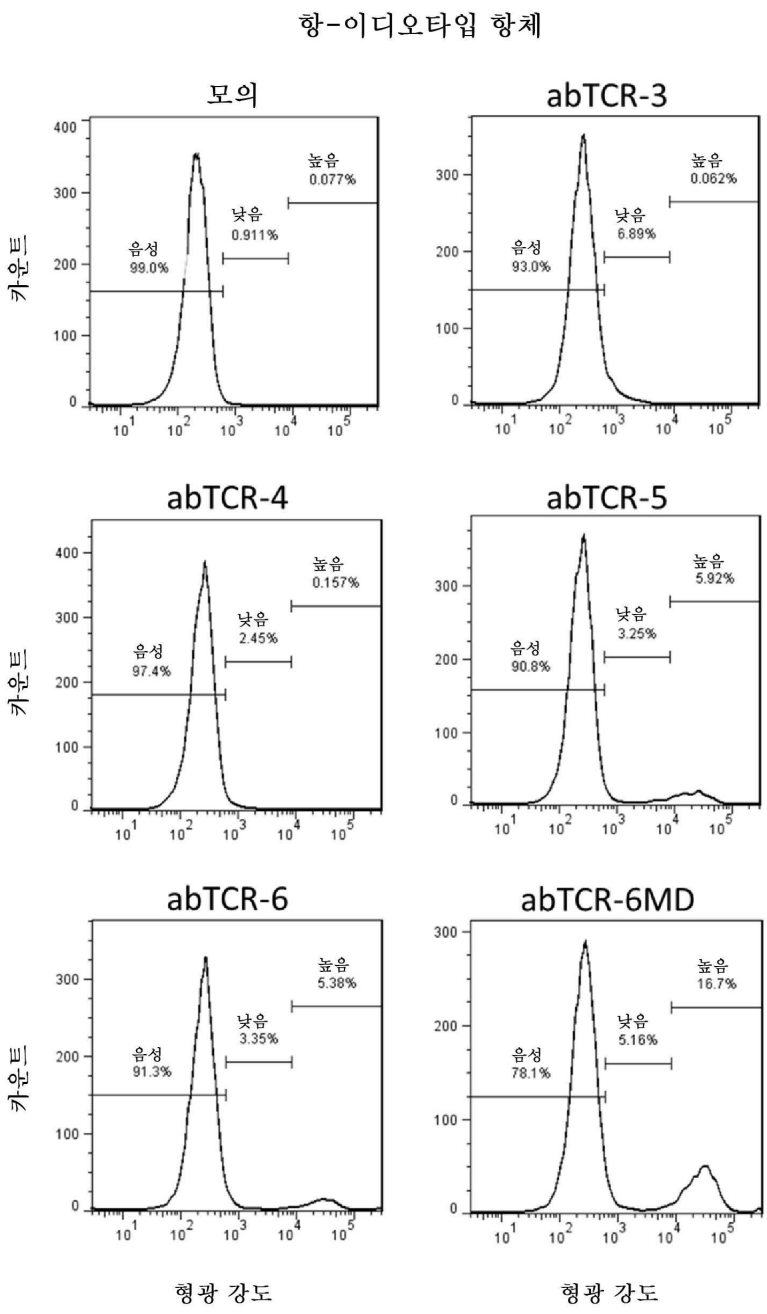
도면5a


TCRα/β 발현
모의
음성
3.56%
abTCR-3
음성
23.0%
abTCR-4
음성
6.05%
abTCR-5
음성
5.18%
abTCR-6
음성
21.3%
abTCR-6MD
음성
15.1%
카운트
카운트
형광 강도
형광 강도

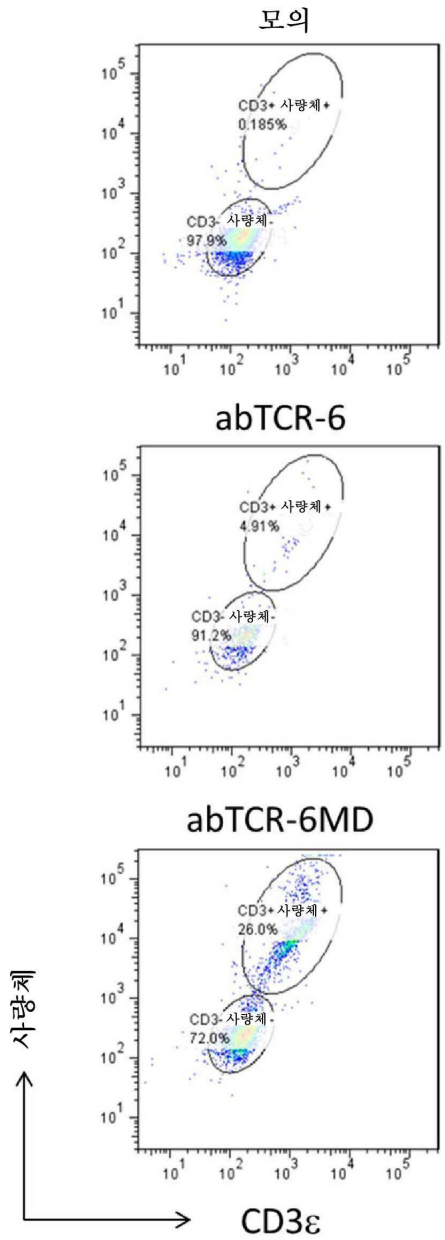
도면5b


AFP158/HLA 사량체 결합
모의
abTCR-3
abTCR-4
abTCR-5
abTCR-6
abTCR-6MD
카운트
음성 99.1%
낮음 0.776%
높음 0.107%
음성 40.2%
낮음 56.2%
높음 3.70%
음성 87.1%
낮음 12.3%
높음 0.574%
음성 88.7%
낮음 3.70%
높음 7.64%
음성 89.5%
낮음 4.36%
높음 6.17%
음성 71.5%
낮음 9.54%
높음 19.0%
형광 강도
형광 강도

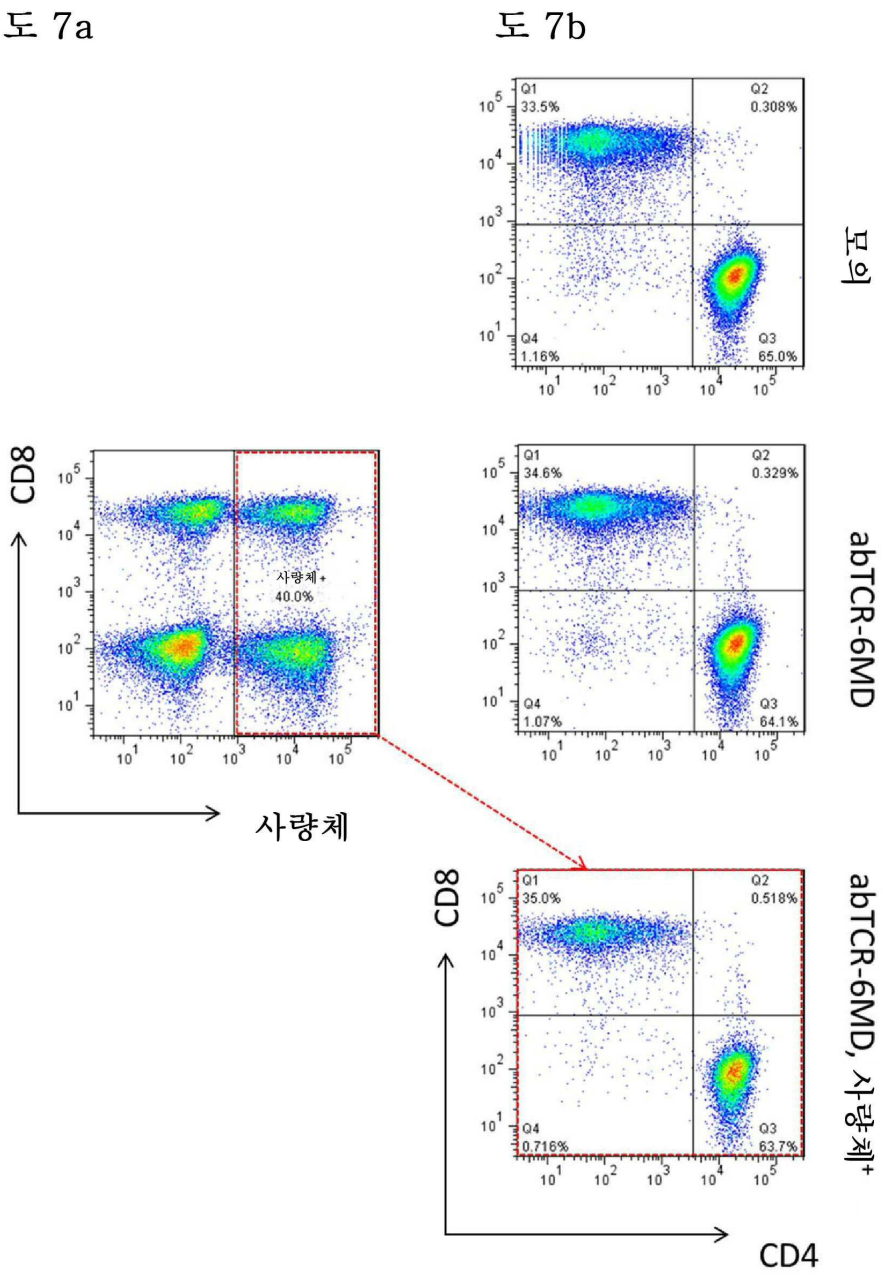
도면5c


항-이디오타입 항체
모의
음성
99.0%
낮음
0.911%
높음
0.077%
abTCR-3
음성
93.0%
낮음
6.89%
높음
0.062%
abTCR-4
음성
97.4%
낮음
2.45%
높음
0.157%
abTCR-5
음성
90.8%
낮음
3.25%
높음
5.92%
abTCR-6
음성
91.3%
낮음
3.35%
높음
5.38%
abTCR-6MD
음성
78.1%
낮음
5.16%
높음
16.7%
카운트
형광 강도
형광 강도

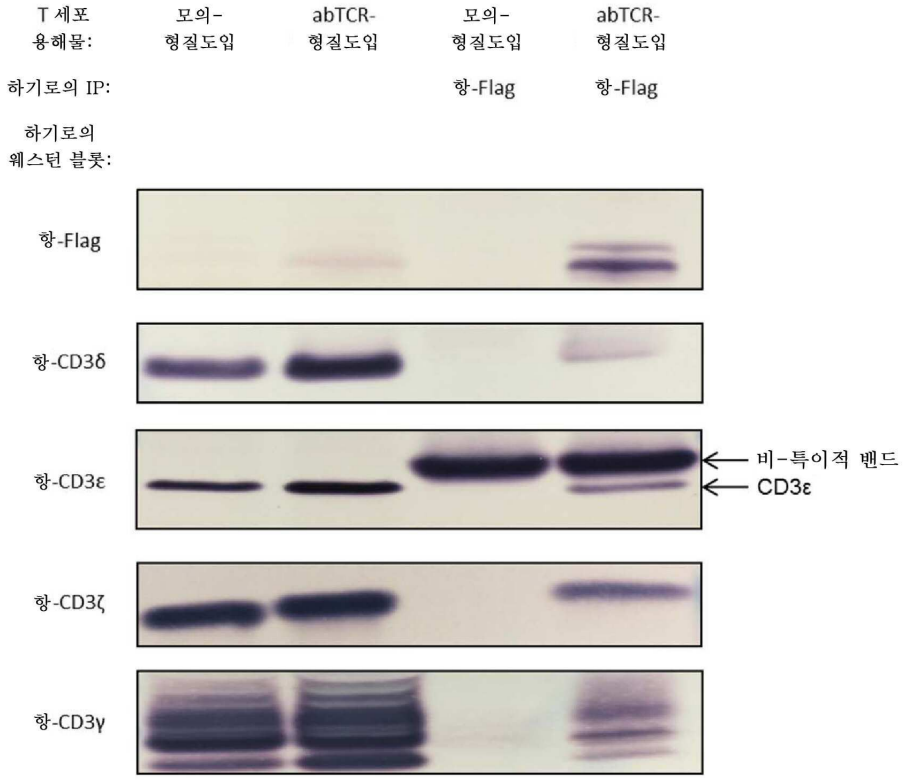
도면6


모의
CD3+ 사량체+
0.185%
CD3- 사량체-
97.9%
abTCR-6
CD3+ 사량체+
4.91%
CD3- 사량체-
91.2%
abTCR-6MD
CD3+ 사량체+
26.0%
CD3- 사량체-
72.0%
사량체
CD3ε

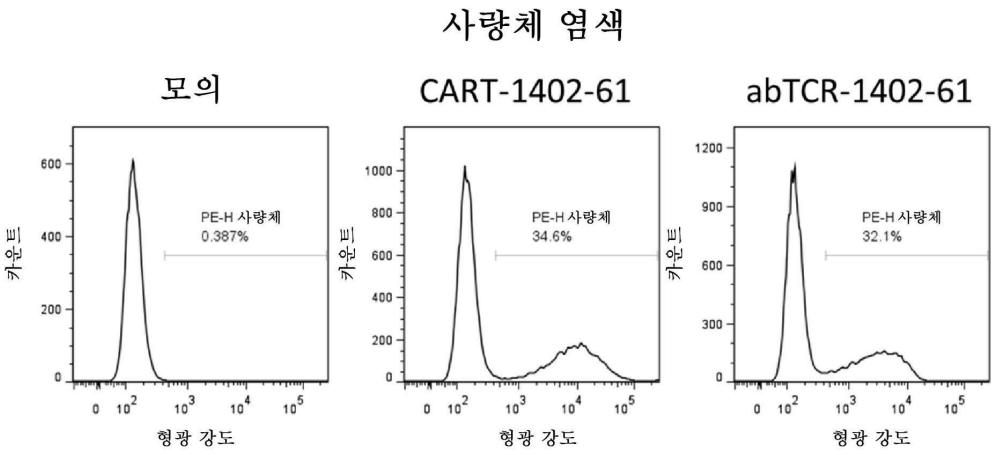
도면7


도 7a
도 7b
CD8
사량체
사량체+
40.0%
Q1
33.5%
Q2
0.308%
Q4
1.16%
Q3
65.0%
모의
Q1
34.6%
Q2
0.329%
Q4
1.07%
Q3
64.1%
abTCR-6MD
Q1
35.0%
Q2
0.518%
Q4
0.716%
Q3
63.7%
abTCR-6MD, 사량체+
CD8
CD4

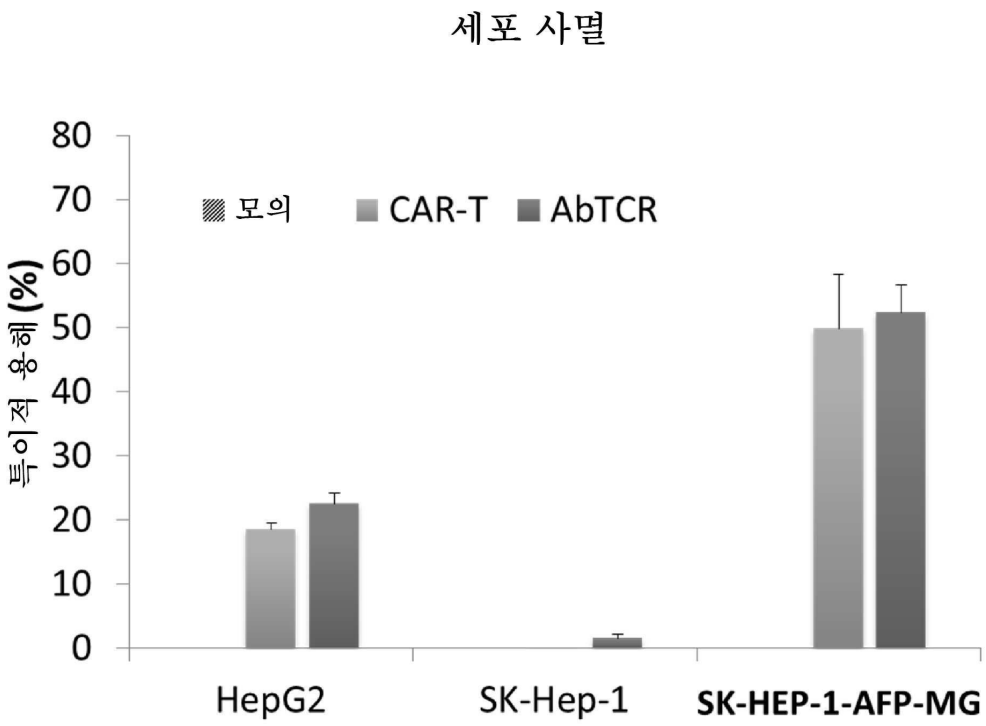
도면8


T 세포
용해물:
모의-
형질도입
abTCR-
형질도입
모의-
형질도입
abTCR-
형질도입
하기로의 IP:
항-Flag
항-Flag
하기로의
웨스턴 블롯:
항-Flag
항-CD3δ
항-CD3ε
항-CD3ζ
항-CD3γ
비-특이적 밴드
CD3ε

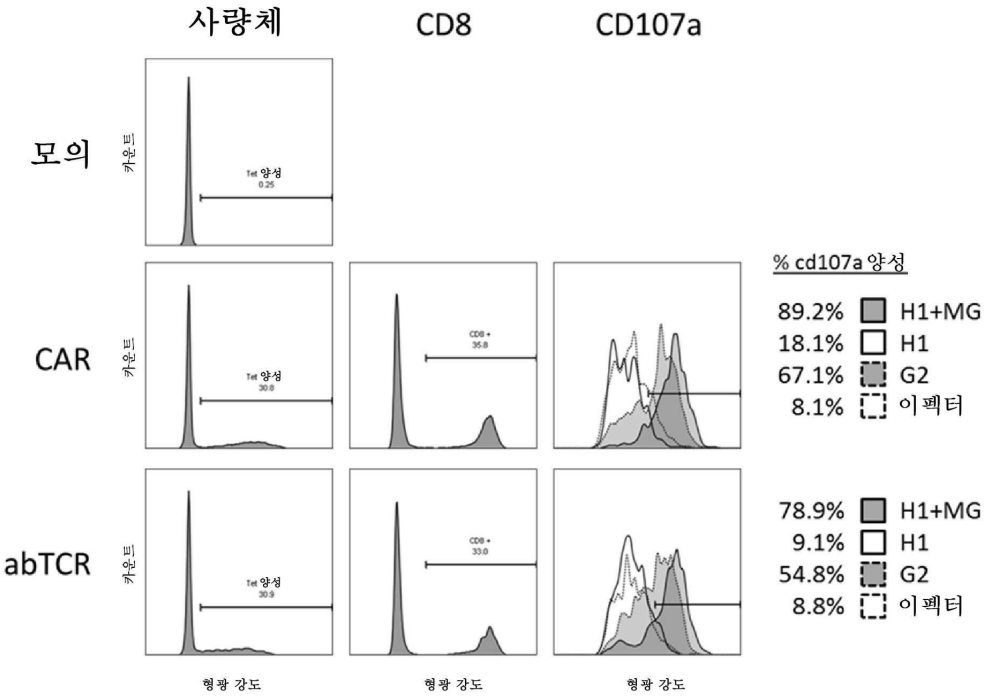
도면9a


사량체 염색
모의
CART-1402-61
abTCR-1402-61
PE-H 사량체
0.387%
PE-H 사량체
34.6%
PE-H 사량체
32.1%
카운트
형광 강도

도면9b

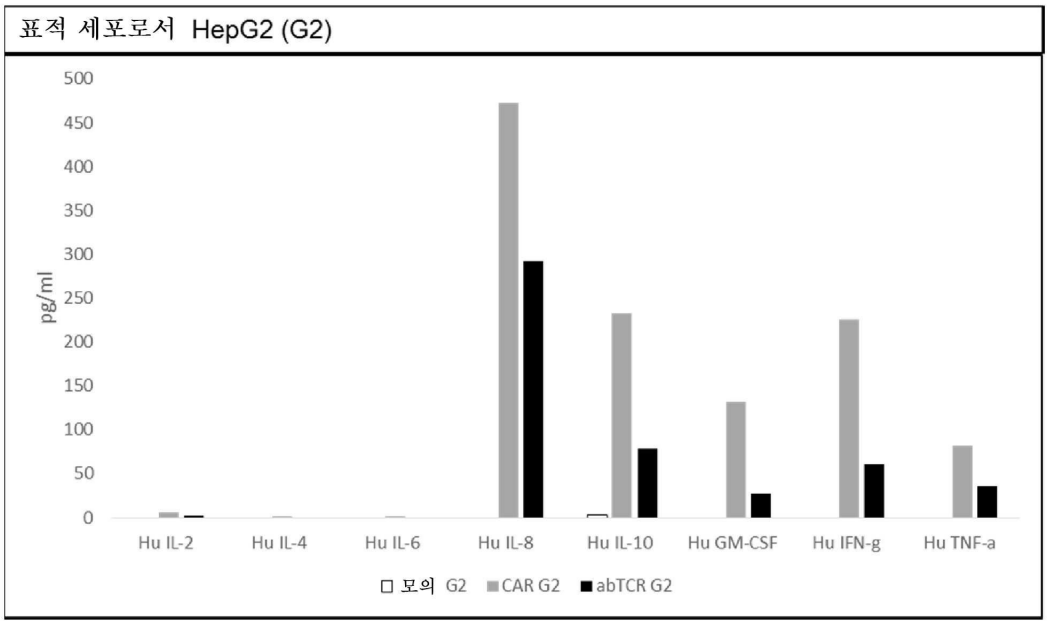

세포 사멸
80
70
60
50
40
30
20
10
0
특이적 용해 (%)
모의
CAR-T
AbTCR
HepG2
SK-Hep-1
SK-HEP-1-AFP-MG

도면10

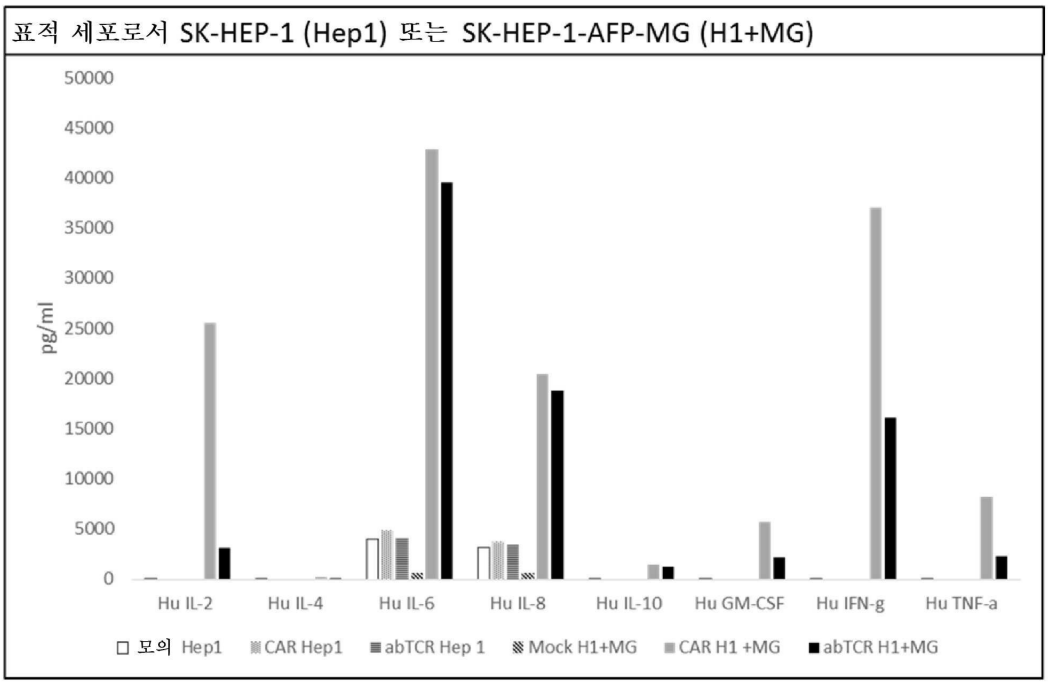


범례	표적 세포
H1+MG	SK-HEP-1-AFP-MG
H1	SK-HEP-1
G2	HepG2
이펙터	-

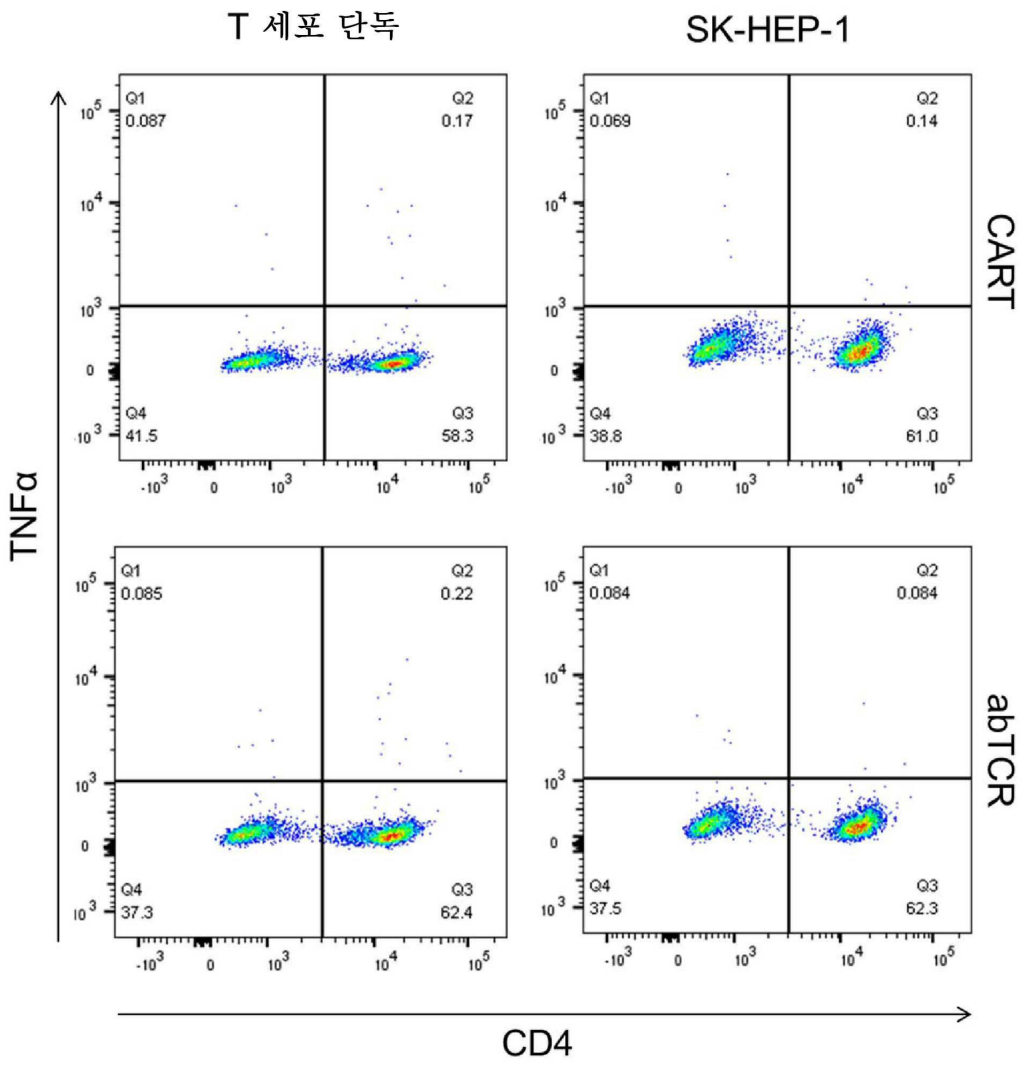
도면11a



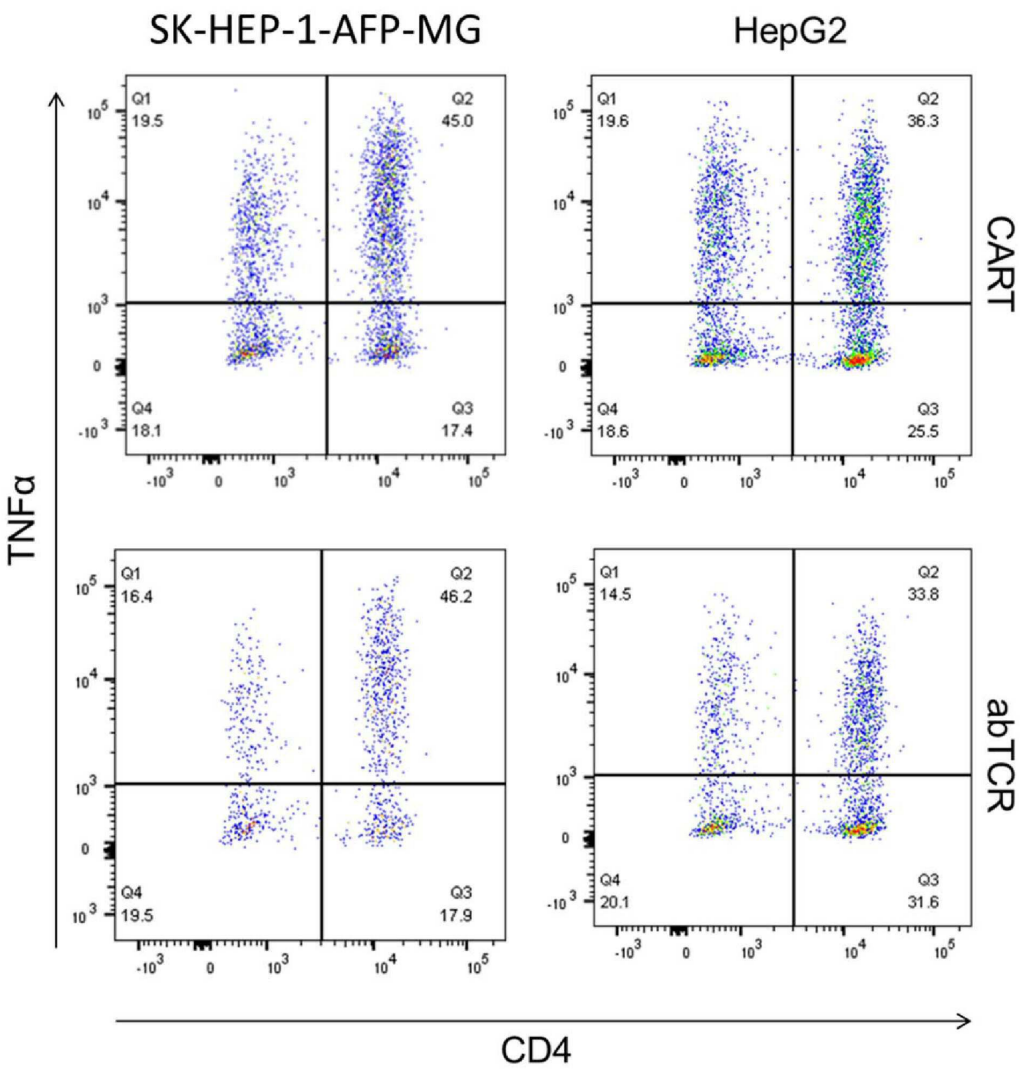
도면11b


표적 세포로서 SK-HEP-1 (Hep1) 또는 SK-HEP-1-AFP-MG (H1+MG)
50000
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
pg/ml
Hu IL-2
Hu IL-4
Hu IL-6
Hu IL-8
Hu IL-10
Hu GM-CSF
Hu IFN-g
Hu TNF-a
모의 Hep1
CAR Hep1
abTCR Hep 1
Mock H1+MG
CAR H1 +MG
abTCR H1+MG

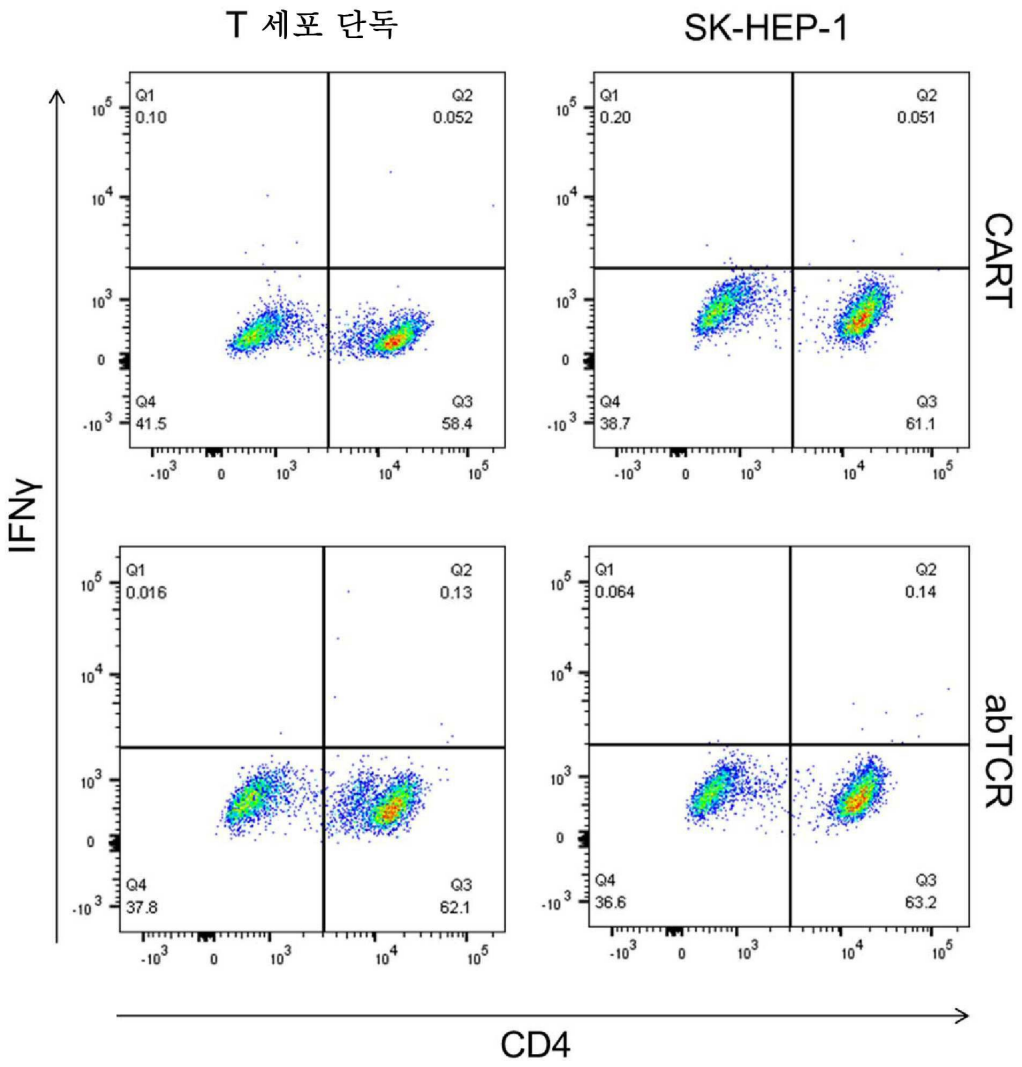
도면12a


T 세포 단독
SK-HEP-1
CART
abTCR
TNFα
CD4
Q1
0.087
Q2
0.17
Q4
41.5
Q3
58.3
Q1
0.069
Q2
0.14
Q4
38.8
Q3
61.0
Q1
0.085
Q2
0.22
Q4
37.3
Q3
62.4
Q1
0.084
Q2
0.084
Q4
37.5
Q3
62.3

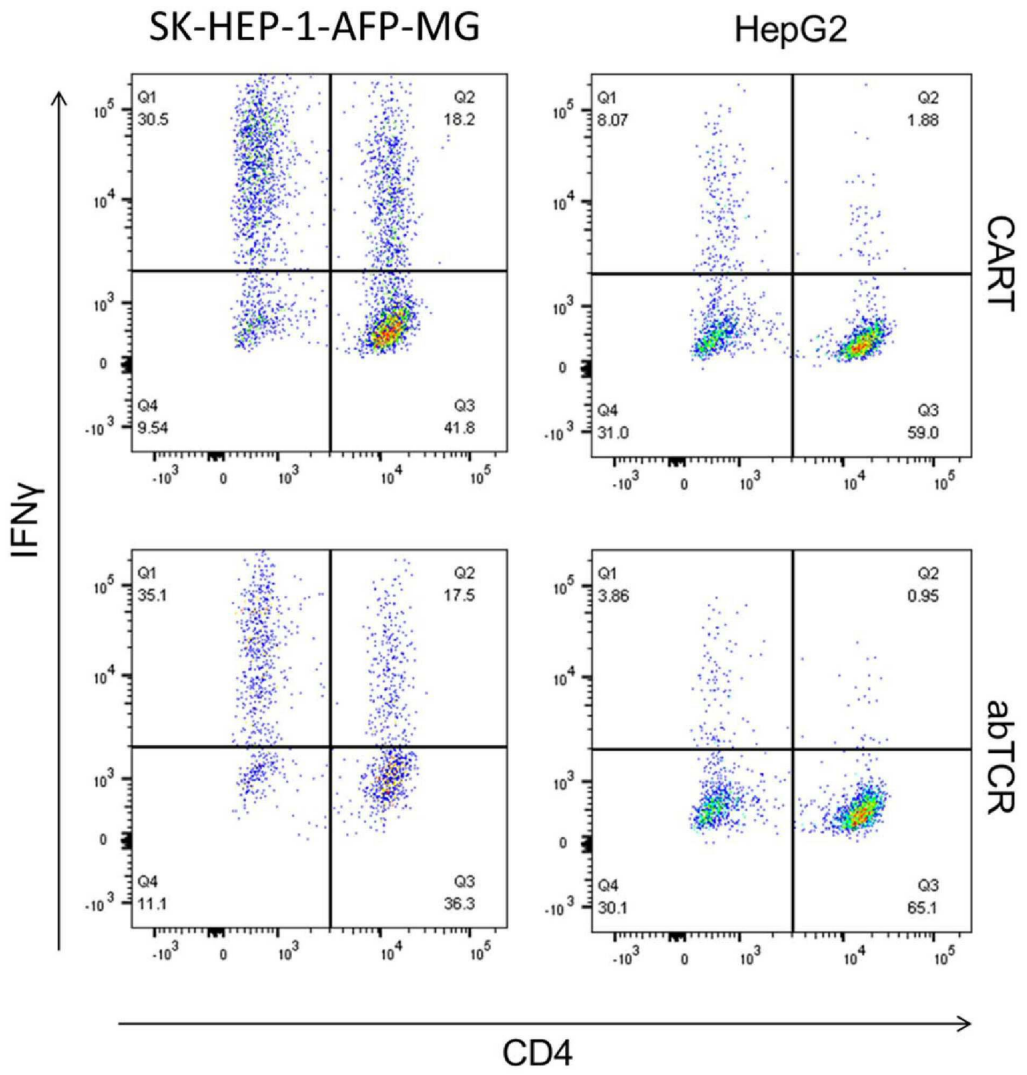
도면12b


SK-HEP-1-AFP-MG
HepG2
CART
abTCR
TNFα
CD4
Q1 19.5
Q2 45.0
Q4 18.1
Q3 17.4
Q1 19.6
Q2 36.3
Q4 18.6
Q3 25.5
Q1 16.4
Q2 46.2
Q4 19.5
Q3 17.9
Q1 14.5
Q2 33.8
Q4 20.1
Q3 31.6

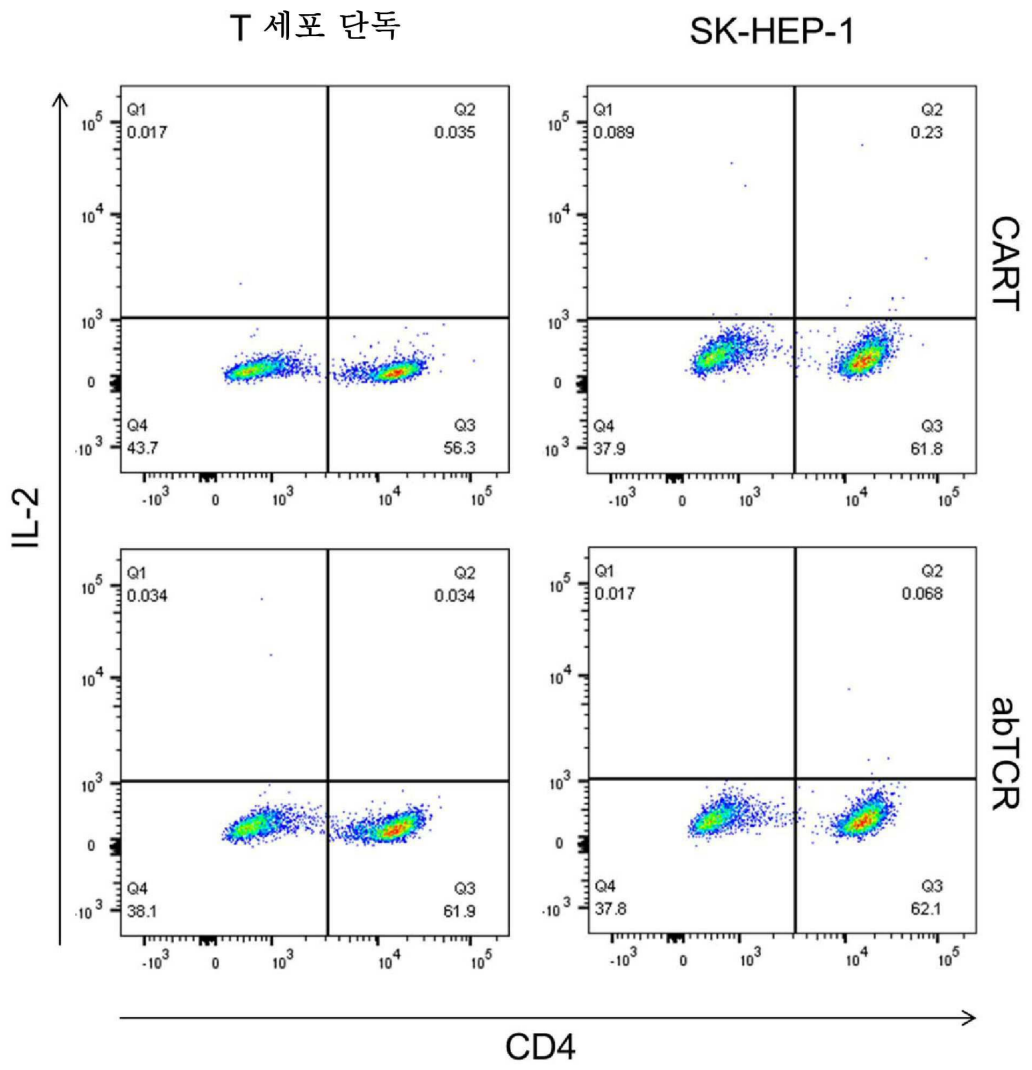
도면12c


T 세포 단독
SK-HEP-1
CART
abTCR
IFNγ
CD4
Q1
0.10
Q2
0.052
Q4
41.5
Q3
58.4
Q1
0.20
Q2
0.051
Q4
38.7
Q3
61.1
Q1
0.016
Q2
0.13
Q4
37.8
Q3
62.1
Q1
0.064
Q2
0.14
Q4
36.6
Q3
63.2

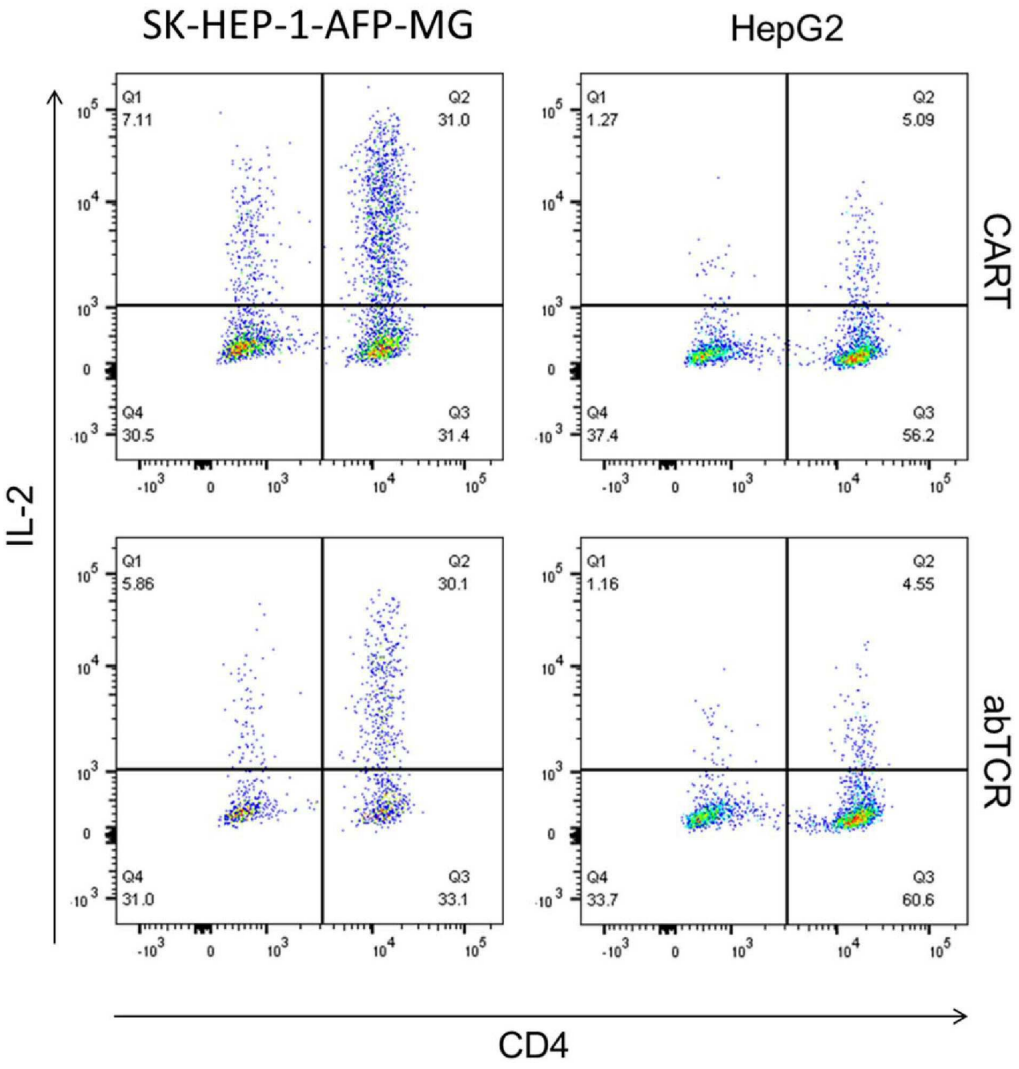
도면12d


SK-HEP-1-AFP-MG
HepG2
CART
abTCR
IFNγ
CD4
Q1
30.5
Q2
18.2
Q4
9.54
Q3
41.8
Q1
8.07
Q2
1.88
Q4
31.0
Q3
59.0
Q1
35.1
Q2
17.5
Q4
11.1
Q3
36.3
Q1
3.86
Q2
0.95
Q4
30.1
Q3
65.1

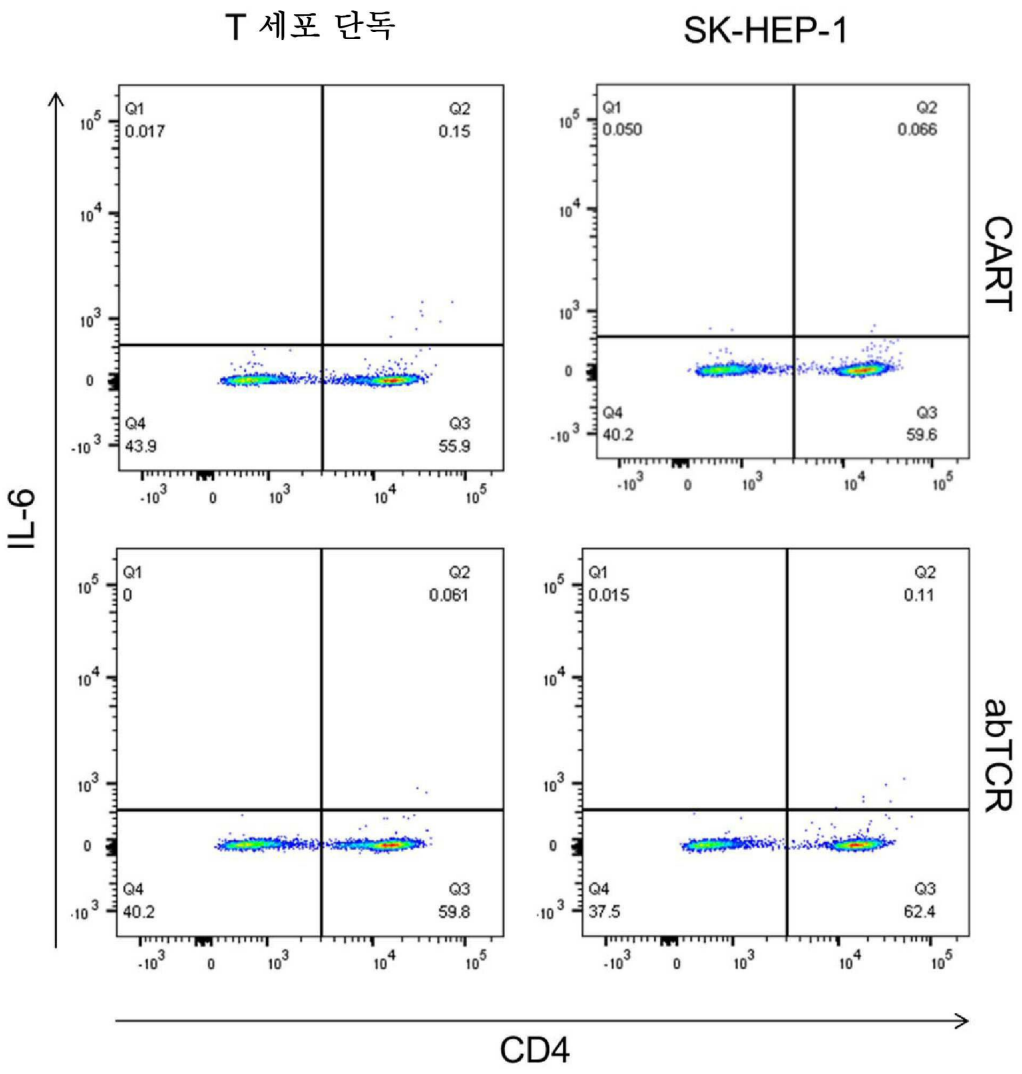
도면12e


T 세포 단독
SK-HEP-1
CART
abTCR
IL-2
CD4
Q1
0.017
Q2
0.035
Q4
43.7
Q3
56.3
Q1
0.089
Q2
0.23
Q4
37.9
Q3
61.8
Q1
0.034
Q2
0.034
Q4
38.1
Q3
61.9
Q1
0.017
Q2
0.068
Q4
37.8
Q3
62.1

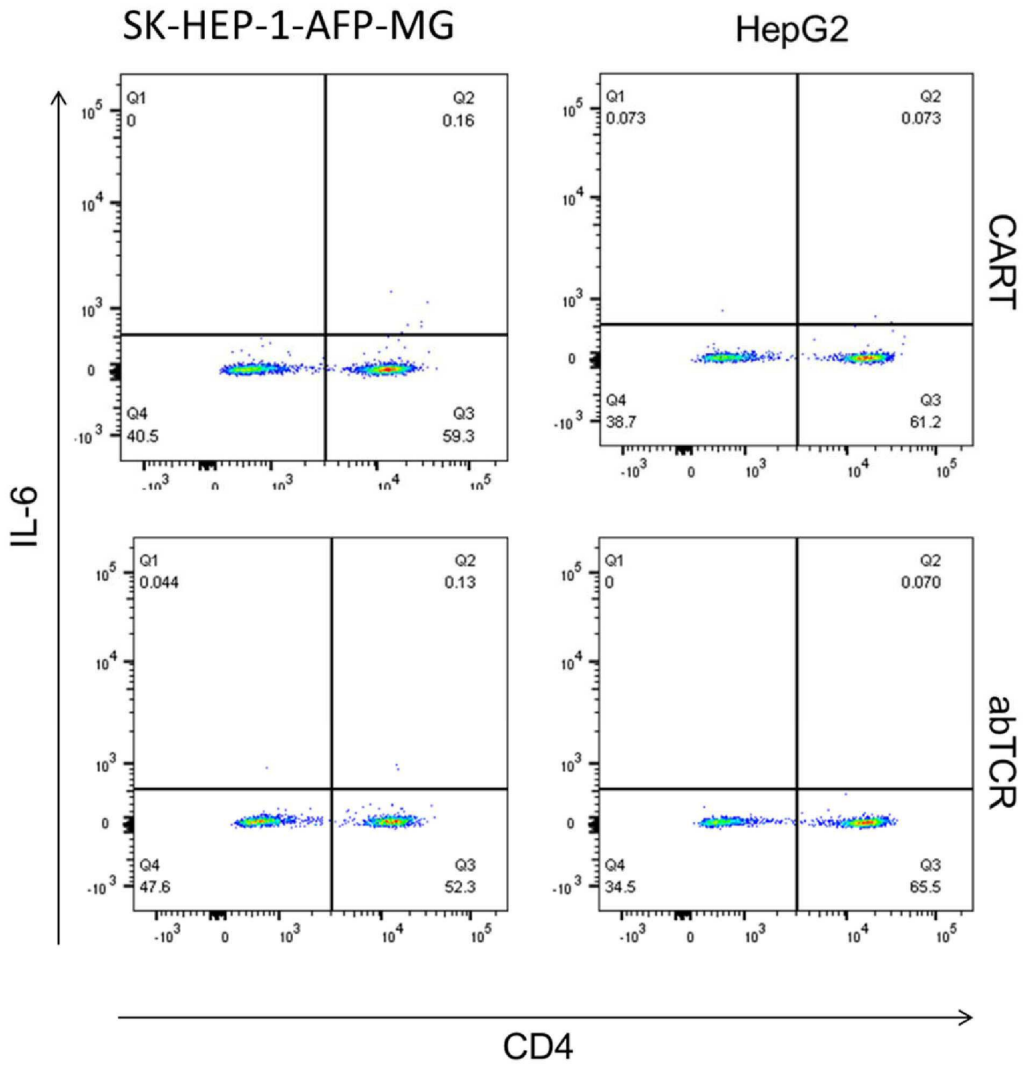
도면12f


SK-HEP-1-AFP-MG
HepG2
CART
abTCR
IL-2
CD4
Q1
7.11
Q2
31.0
Q4
30.5
Q3
31.4
Q1
1.27
Q2
5.09
Q4
37.4
Q3
56.2
Q1
5.86
Q2
30.1
Q4
31.0
Q3
33.1
Q1
1.16
Q2
4.55
Q4
33.7
Q3
60.6

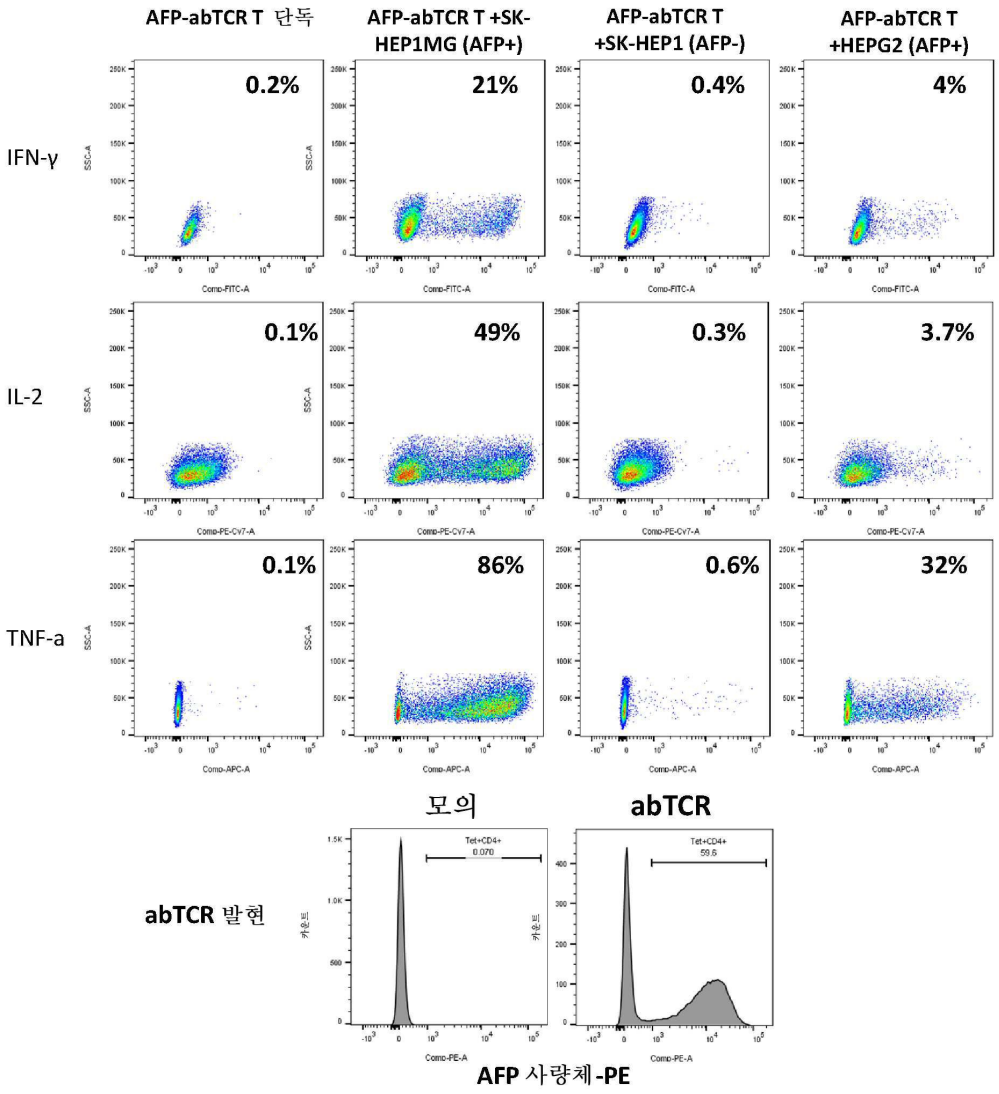
도면12g


T 세포 단독
SK-HEP-1
CART
abTCR
IL-6
CD4
Q1
0.017
Q2
0.15
Q4
43.9
Q3
55.9
Q1
0.050
Q2
0.066
Q4
40.2
Q3
59.6
Q1
0
Q2
0.061
Q4
40.2
Q3
59.8
Q1
0.015
Q2
0.11
Q4
37.5
Q3
62.4

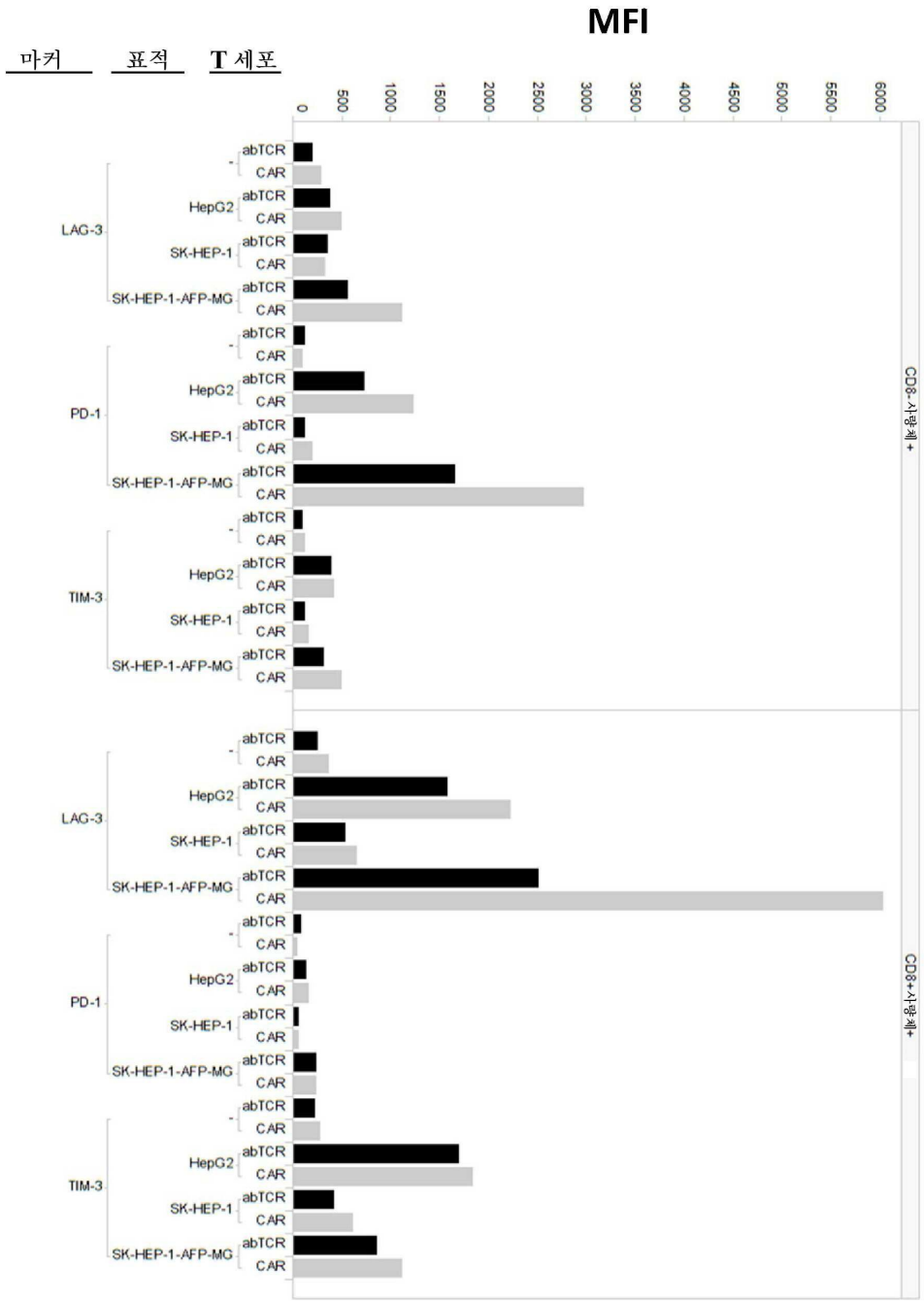
도면12h


SK-HEP-1-AFP-MG
HepG2
CART
abTCR
IL-6
CD4
Q1
0
Q2
0.16
Q4
40.5
Q3
59.3
Q1
0.073
Q2
0.073
Q4
38.7
Q3
61.2
Q1
0.044
Q2
0.13
Q4
47.6
Q3
52.3
Q1
0
Q2
0.070
Q4
34.5
Q3
65.5

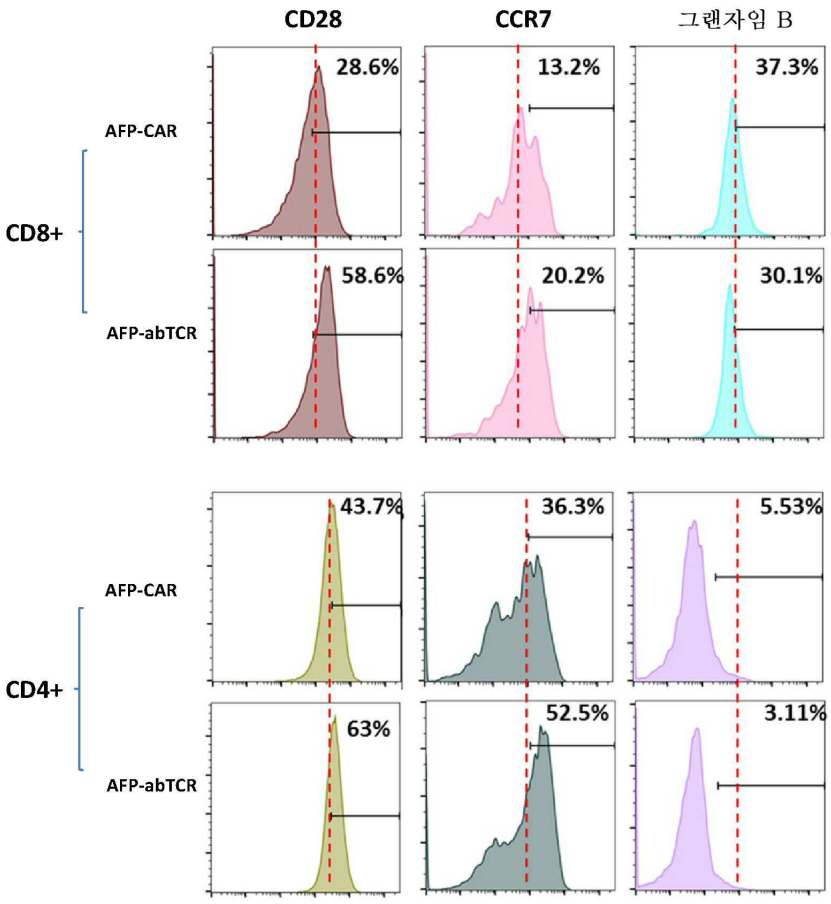
도면13


AFP-abTCR T 단독
AFP-abTCR T +SK-HEP1MG (AFP+)
AFP-abTCR T +SK-HEP1 (AFP-)
AFP-abTCR T +HEPG2 (AFP+)
IFN-γ
0.2%
21%
0.4%
4%
IL-2
0.1%
49%
0.3%
3.7%
TNF-a
0.1%
86%
0.6%
32%
모의
abTCR
abTCR 발현
AFP 사량체-PE

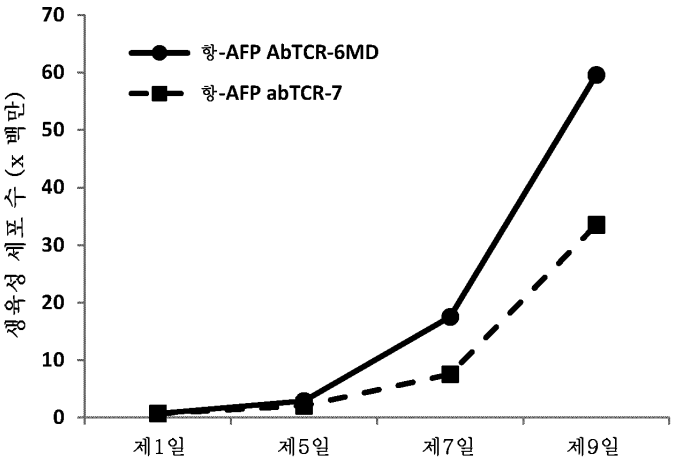
도면14


MFI
마커
표적
T 세포
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
3500
4000
4500
5000
5500
6000
LAG-3
PD-1
TIM-3
-
HepG2
SK-HEP-1
SK-HEP-1-AFP-MG
abTCR
CAR
CD8+사량체+
CD8+사량체+

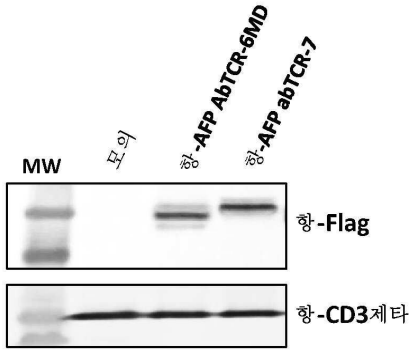
도면15


CD28
CCR7
그랜자임 B
CD8+
AFP-CAR
AFP-abTCR
28.6%
13.2%
37.3%
58.6%
20.2%
30.1%
CD4+
AFP-CAR
AFP-abTCR
43.7%
36.3%
5.53%
63%
52.5%
3.11%

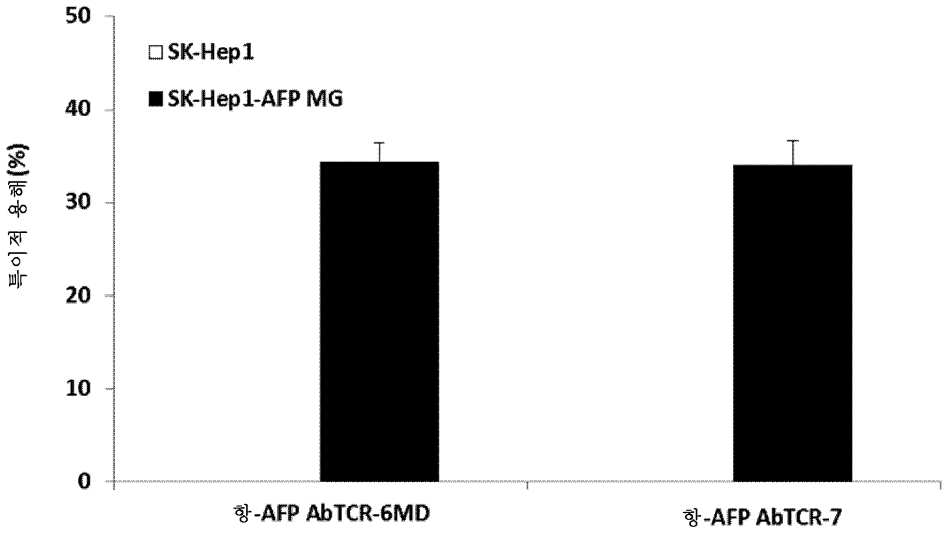
도면16a


항-AFP AbTCR-6MD
항-AFP abTCR-7
생육성 세포 수 (x 백만)
70
60
50
40
30
20
10
0
제1일
제5일
제7일
제9일

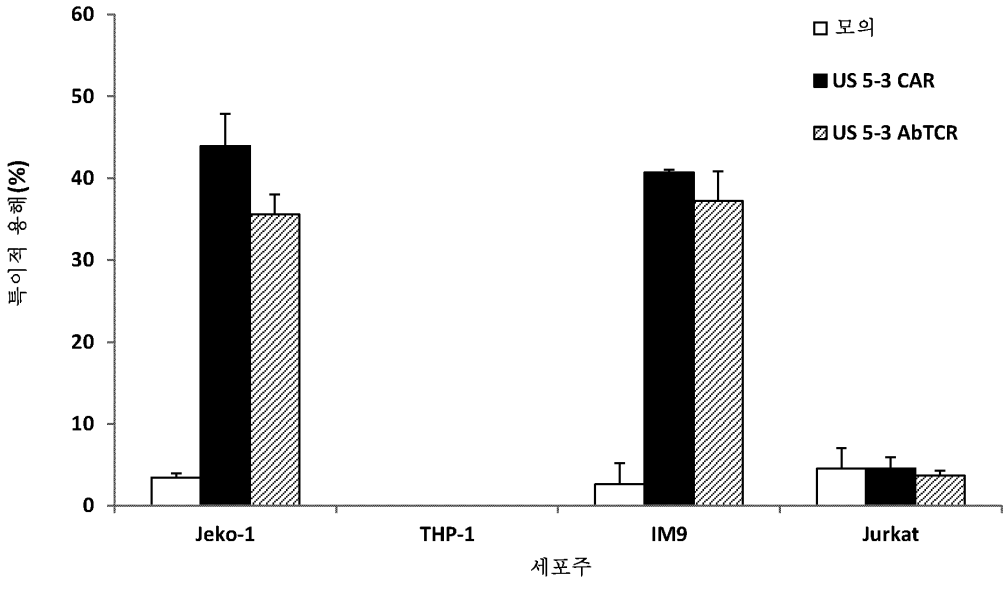
도면16b



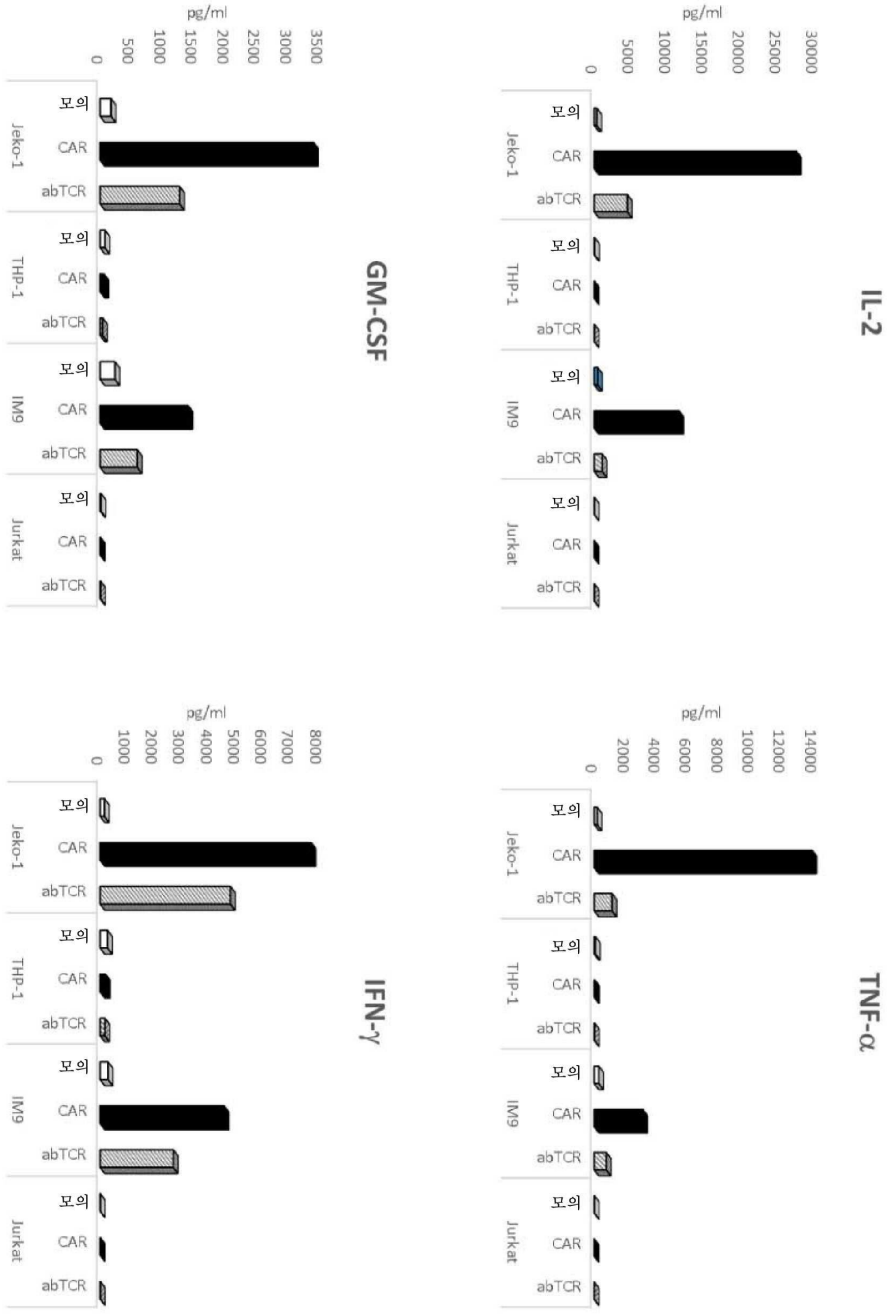
도면16c



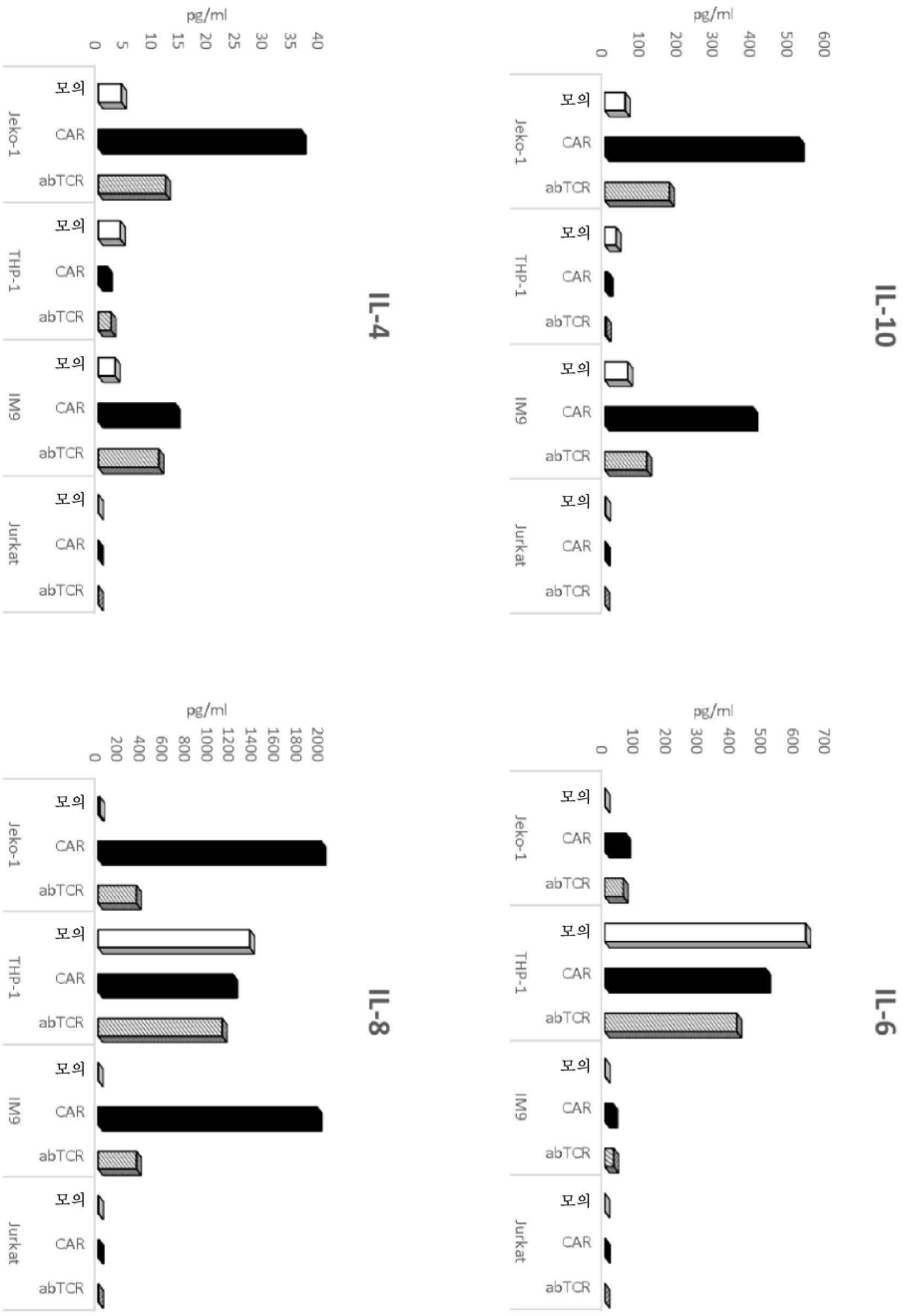
도면17



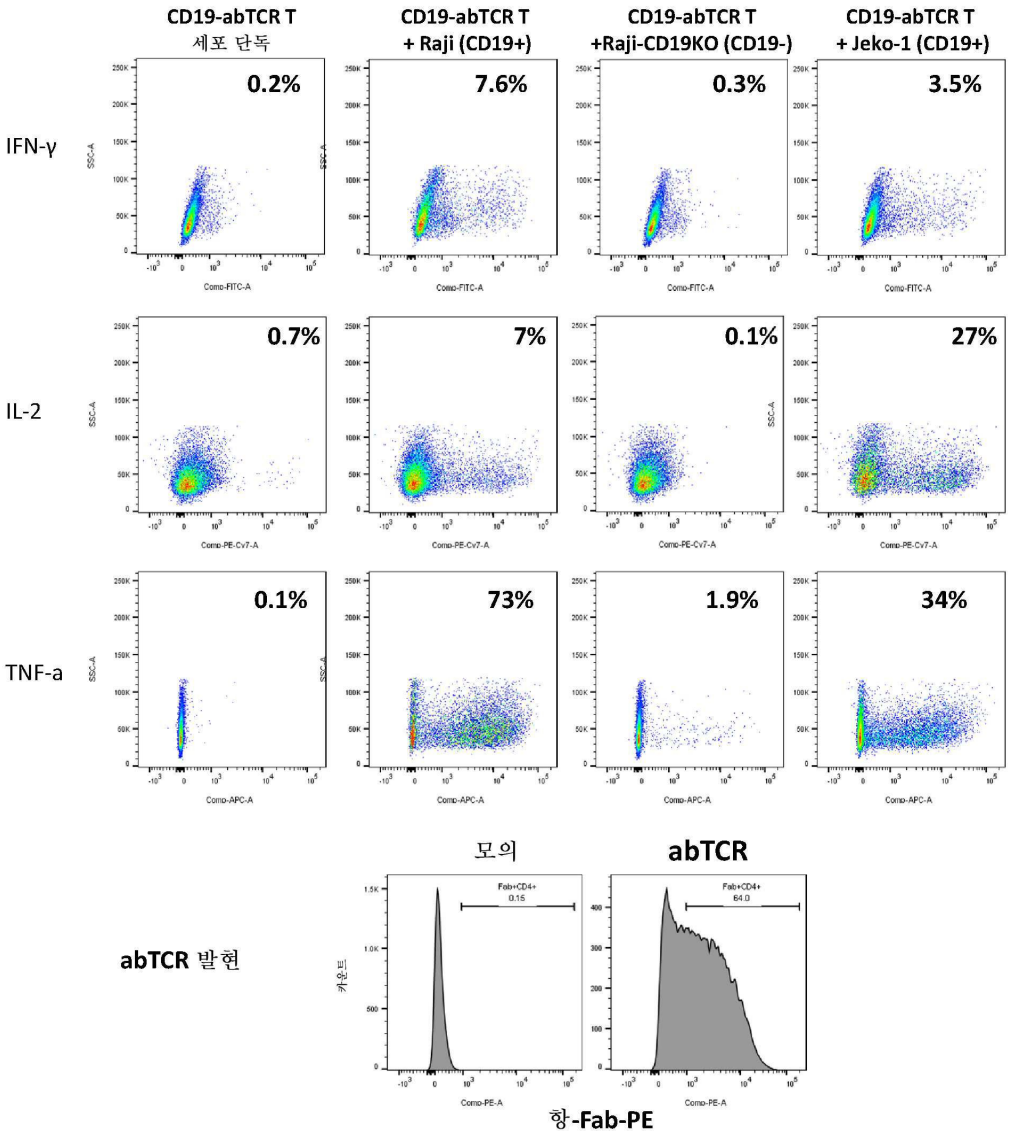
도면18a



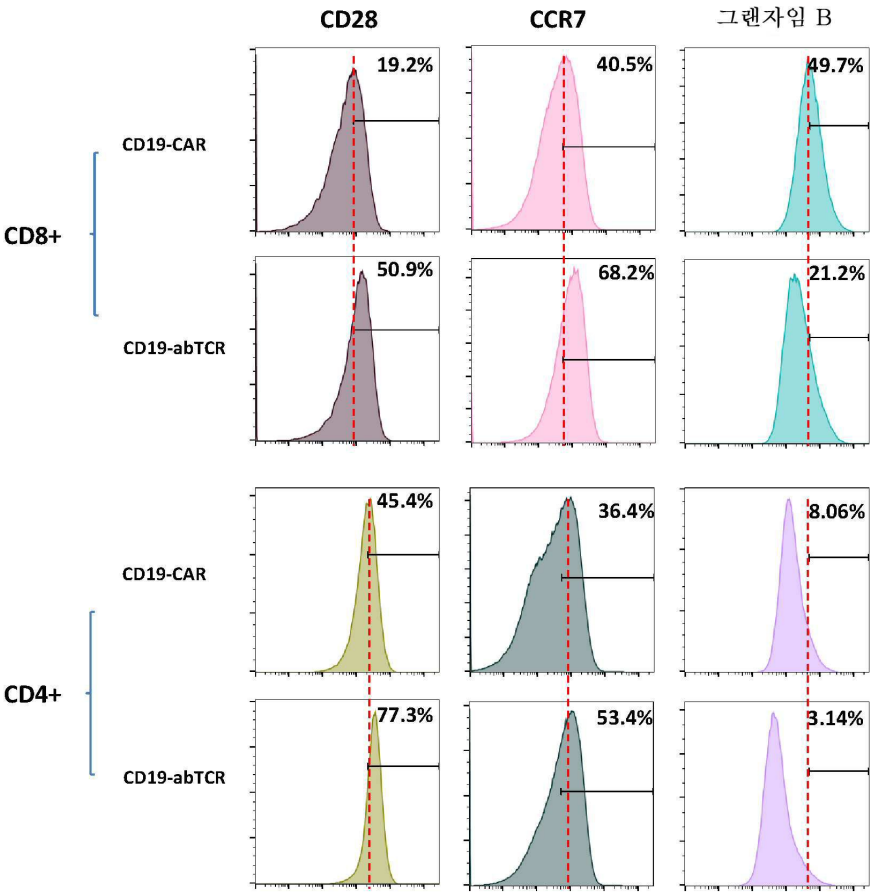
도면18b


IL-4
pg/ml
0
5
10
15
20
25
30
35
40
Jeko-1
THP-1
IM9
Jurkat
모의
CAR
abTCR
IL-10
pg/ml
0
100
200
300
400
500
600
IL-8
pg/ml
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
IL-6
pg/ml
0
100
200
300
400
500
600
700

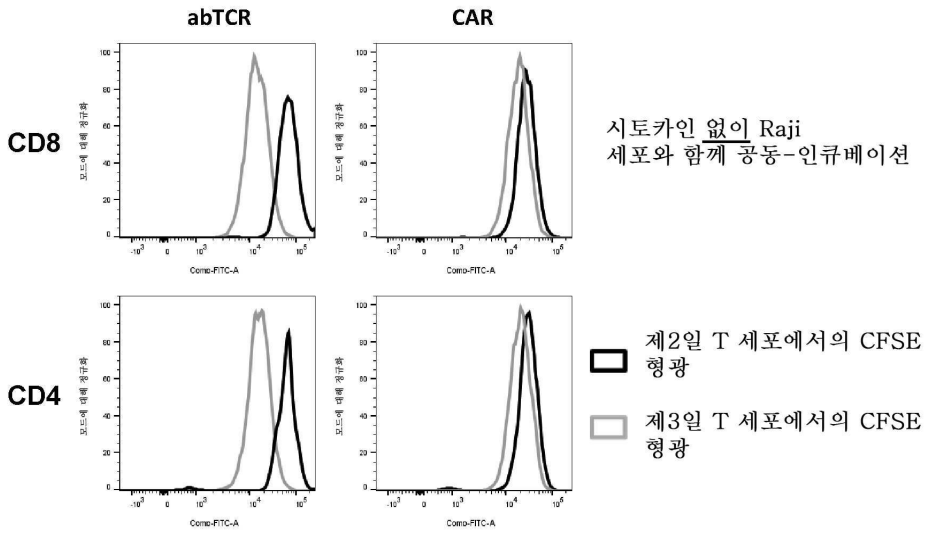
도면19


CD19-abTCR T
세포 단독
CD19-abTCR T
+ Raji (CD19+)
CD19-abTCR T
+Raji-CD19KO (CD19-)
CD19-abTCR T
+ Jeko-1 (CD19+)
IFN-γ
0.2%
7.6%
0.3%
3.5%
IL-2
0.7%
7%
0.1%
27%
TNF-a
0.1%
73%
1.9%
34%
abTCR 발현
모의
abTCR
카운트
항-Fab-PE

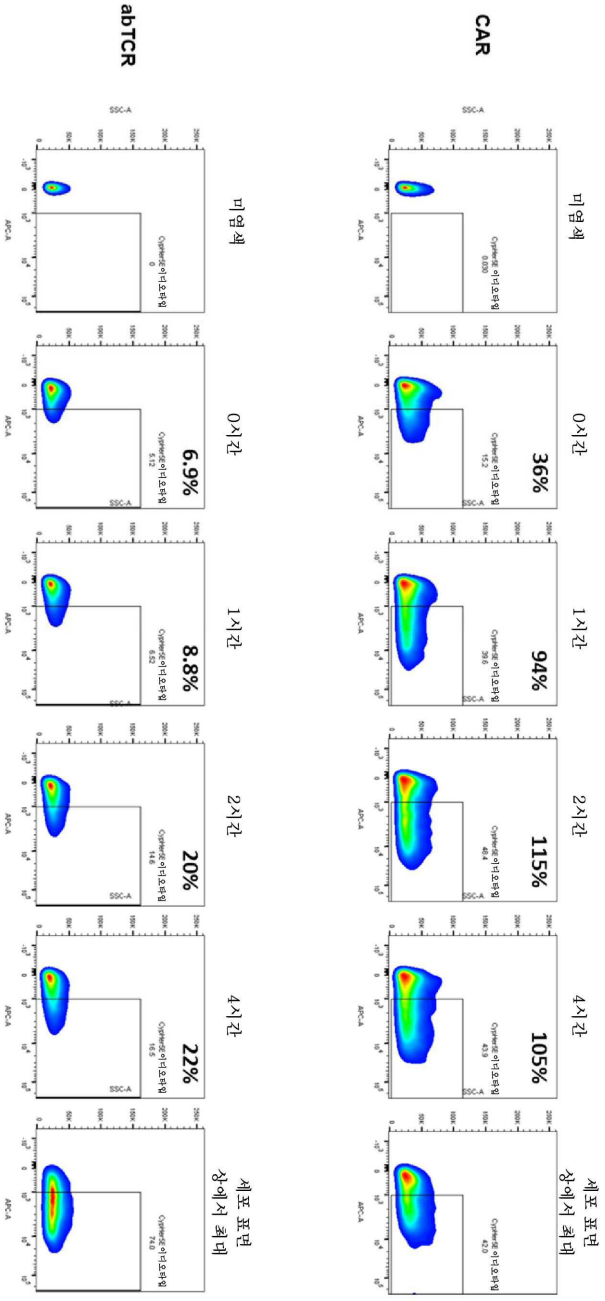
도면20


CD28
CCR7
그랜자임 B
CD8+
CD19-CAR
CD19-abTCR
CD4+
CD19-CAR
CD19-abTCR
19.2%
40.5%
49.7%
50.9%
68.2%
21.2%
45.4%
36.4%
8.06%
77.3%
53.4%
3.14%

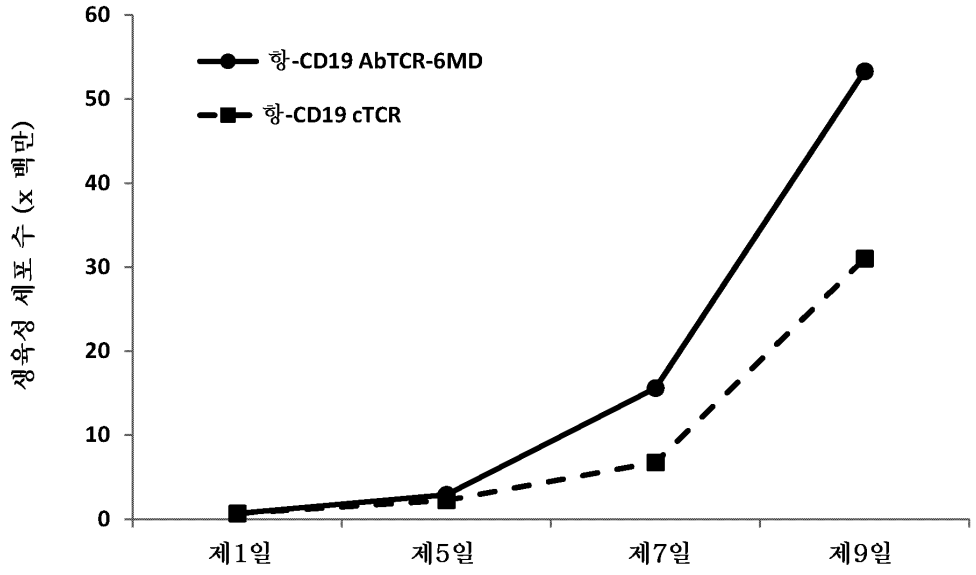
도면21


abTCR
CAR
CD8
CD4
시토카인 없이 Raji
세포와 함께 공동-인큐베이션
제2일 T 세포에서의 CFSE
형광
제3일 T 세포에서의 CFSE
형광

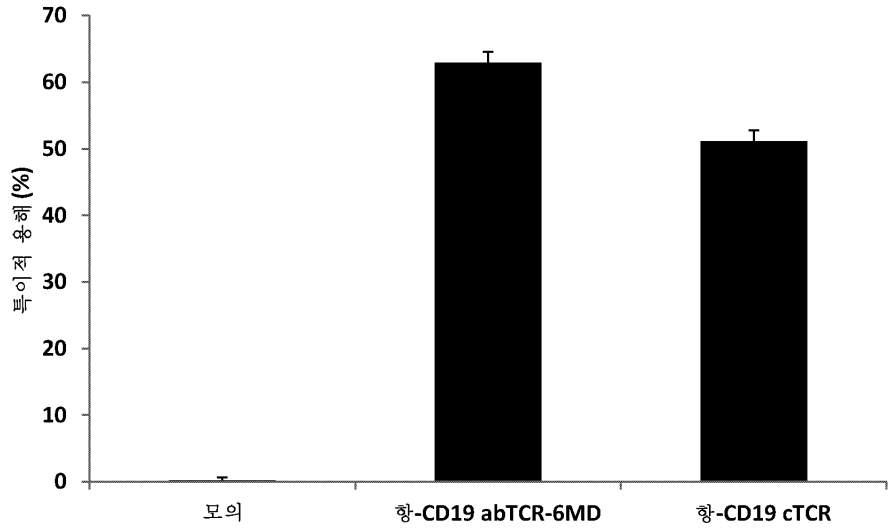
도면22


CAR
abTCR
미염색
0시간
1시간
2시간
4시간
세포 표면 상에서 최대
36%
94%
115%
105%
6.9%
8.8%
20%
22%

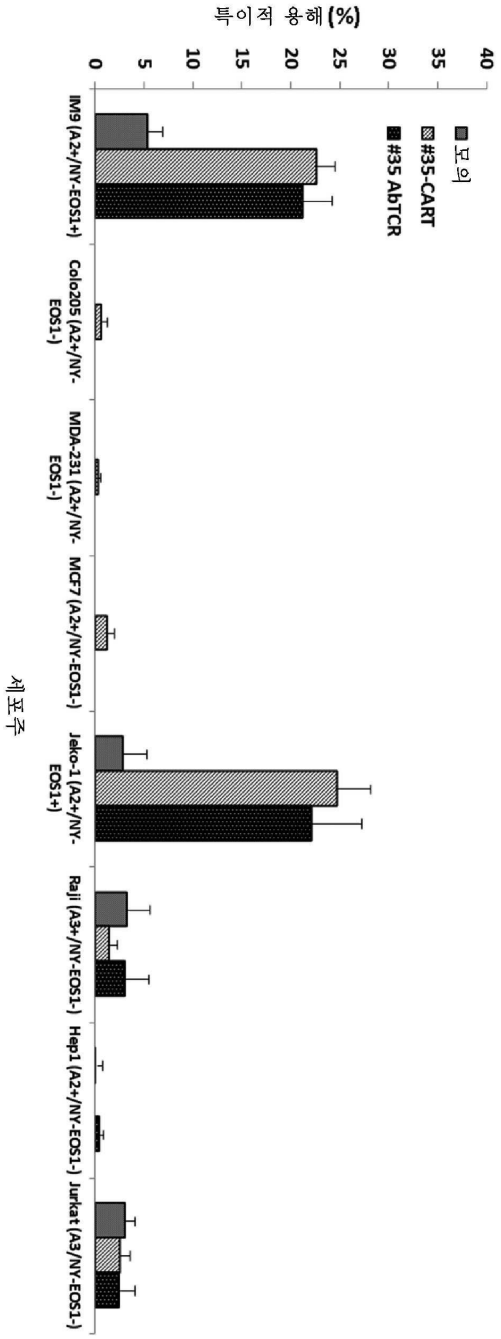
도면23a


60
50
40
30
20
10
0
생육성 세포 수 (x 백만)
항-CD19 AbTCR-6MD
항-CD19 cTCR
제1일
제5일
제7일
제9일

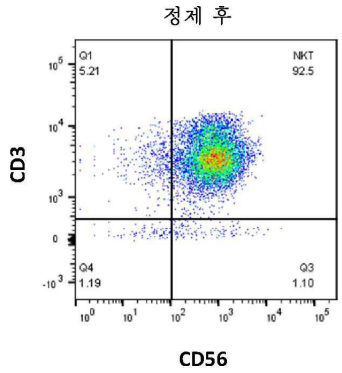
도면23b


70
60
50
40
30
20
10
0
특이적 용해 (%)
모의
항-CD19 abTCR-6MD
항-CD19 cTCR

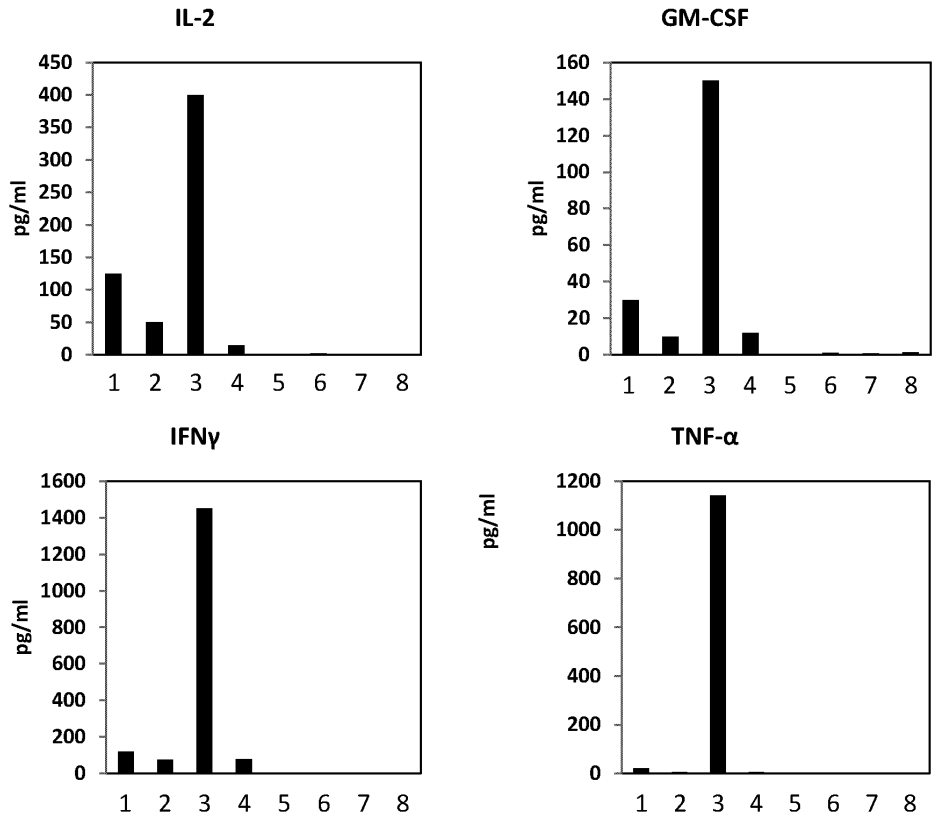
도면24


특이적 용해(%)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
모의
#35-CART
#35 AbTCR
IM9 (A2+/NY-EOS1+)
Colo205 (A2+/NY-EOS1-)
MDA-231 (A2+/NY-EOS1-)
MCF7 (A2+/NY-EOS1-)
Jeko-1 (A2+/NY-EOS1+)
Raji (A3+/NY-EOS1-)
Hep1 (A2+/NY-EOS1-)
Jurkat (A3/NY-EOS1-)
세포주

도면25a

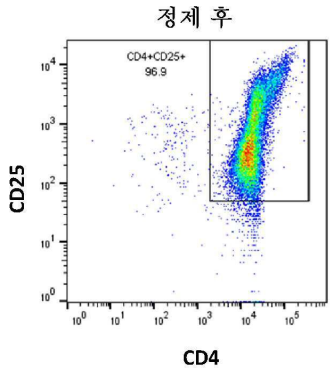


도면25b

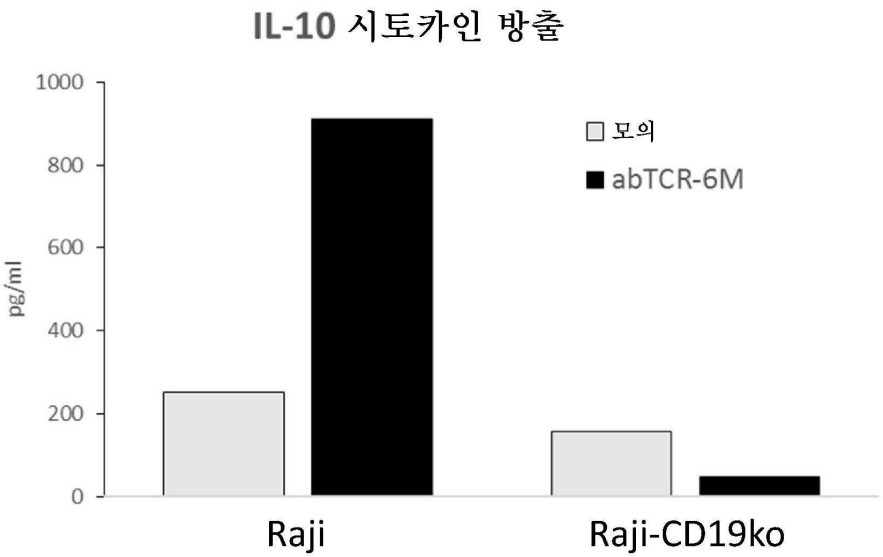


1: 모의 + Raji
2: 모의 + Raji-CD19ko
3: abTCR + Raji
4: abTCR + Raji-CD19ko
5: 모의 단독
6: abTCR 단독
7: Raji 단독
8: Raji-CD19ko 단독

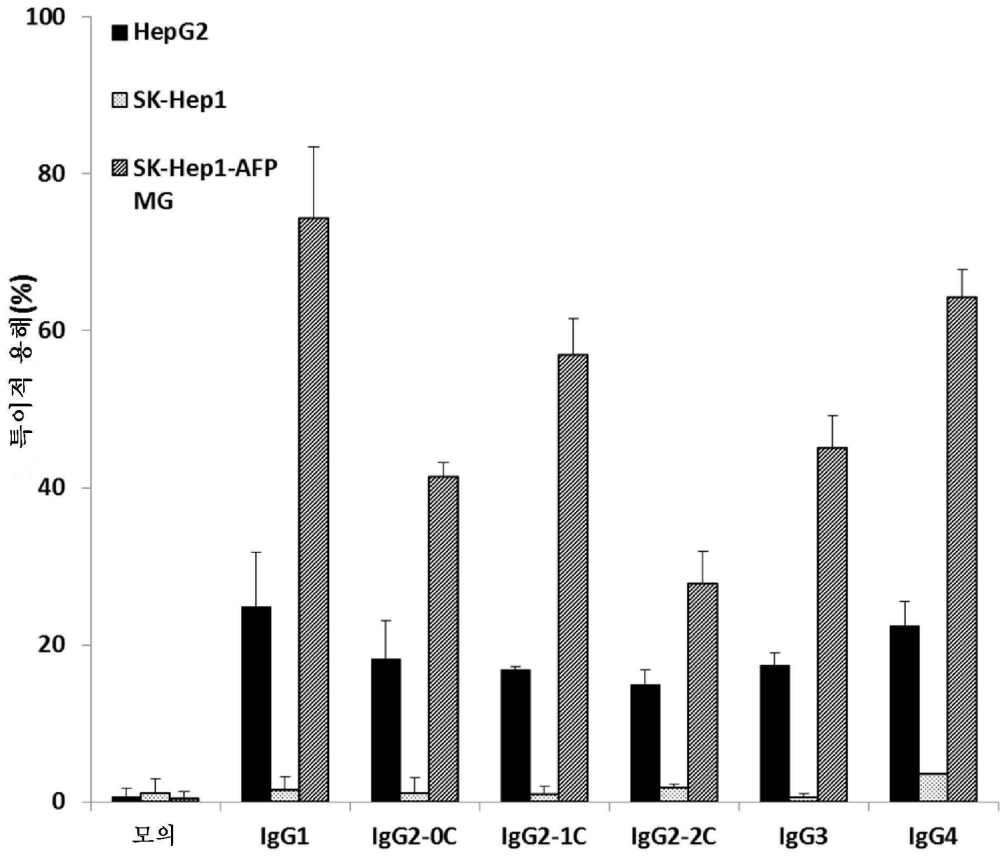
도면26a


정제 후
CD4+CD25+
96.9
CD25
CD4

도면26b


IL-10 시토카인 방출
1000
800
600
400
200
0
pg/ml
모의
abTCR-6M
Raji
Raji-CD19ko

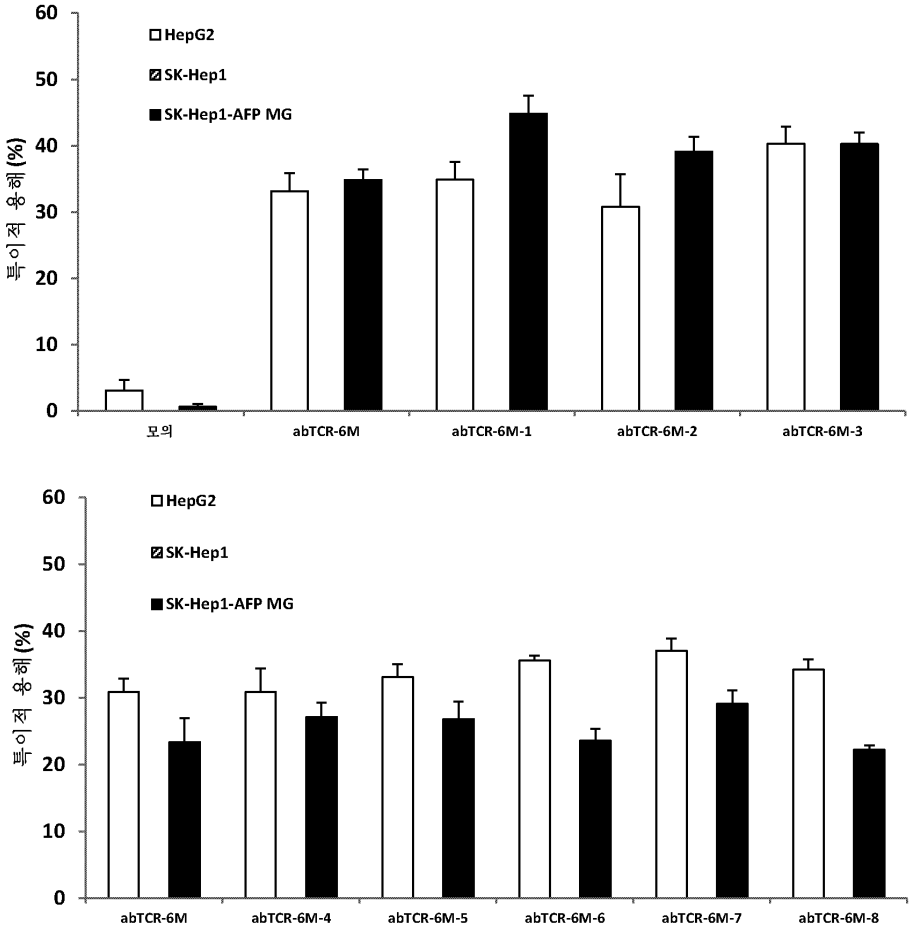
도면27


100
80
60
40
20
0
HepG2
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP MG
특이적 용해(%)
모의
IgG1
IgG2-0C
IgG2-1C
IgG2-2C
IgG3
IgG4

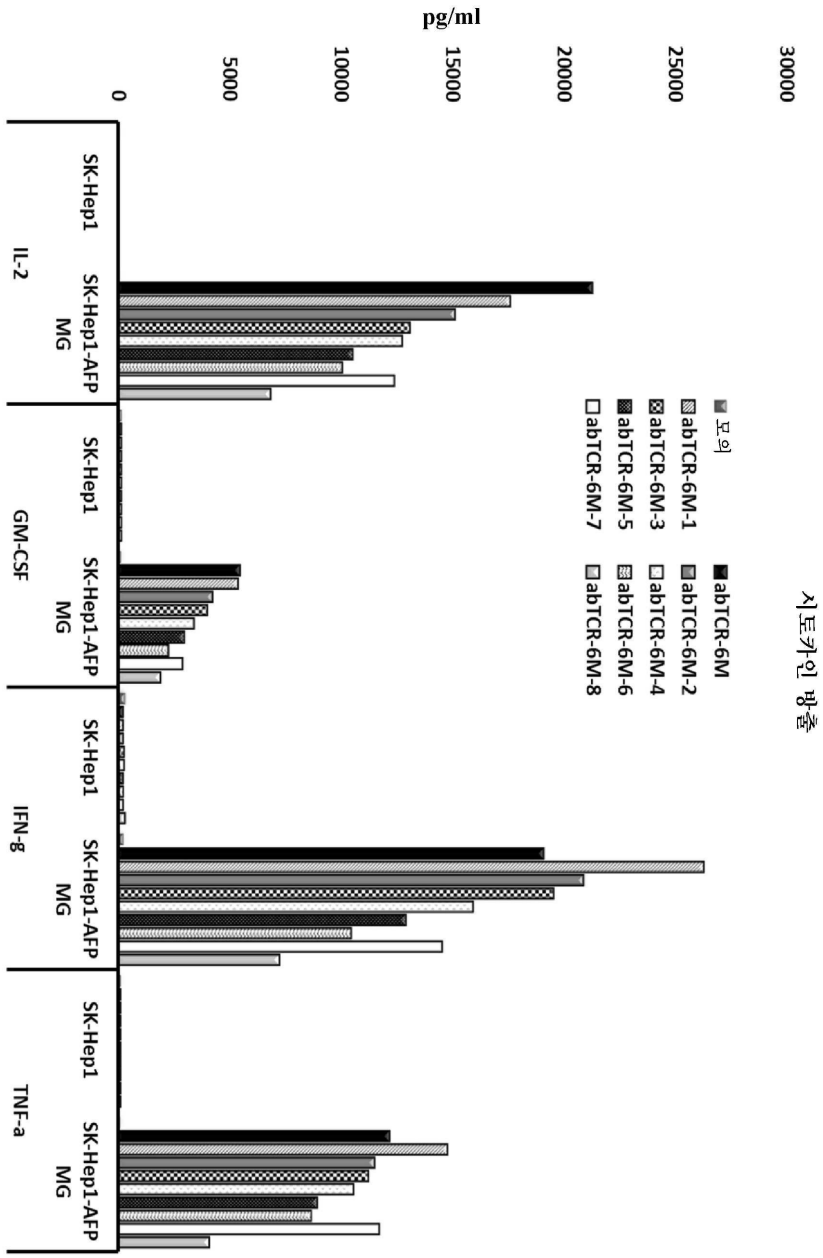
도면28

abTCR-6M-1
abTCR-6M-2
abTCR-6M-3
abTCR-6M-4
abTCR-6M-5
abTCR-6M-6
abTCR-6M-7
abTCR-6M-8
CD28
41BB

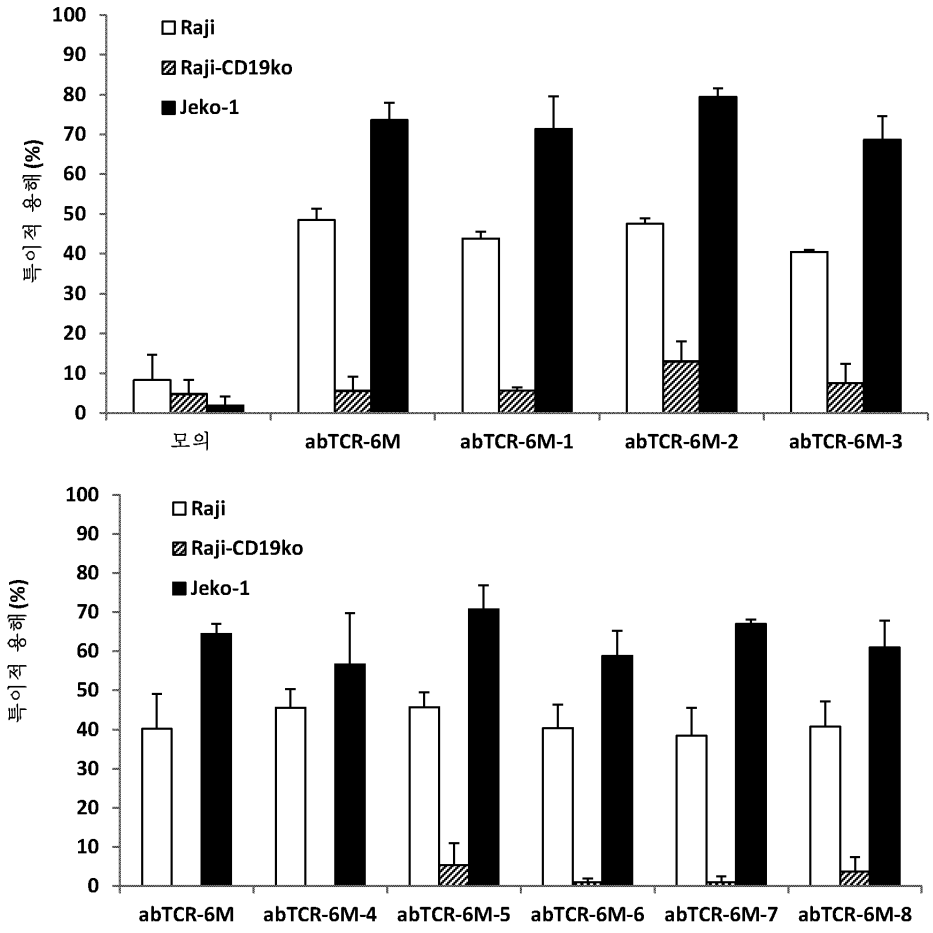
도면29


HepG2
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP MG
특이적 용해 (%)
60
50
40
30
20
10
0
모의
abTCR-6M
abTCR-6M-1
abTCR-6M-2
abTCR-6M-3
HepG2
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP MG
특이적 용해 (%)
60
50
40
30
20
10
0
abTCR-6M
abTCR-6M-4
abTCR-6M-5
abTCR-6M-6
abTCR-6M-7
abTCR-6M-8

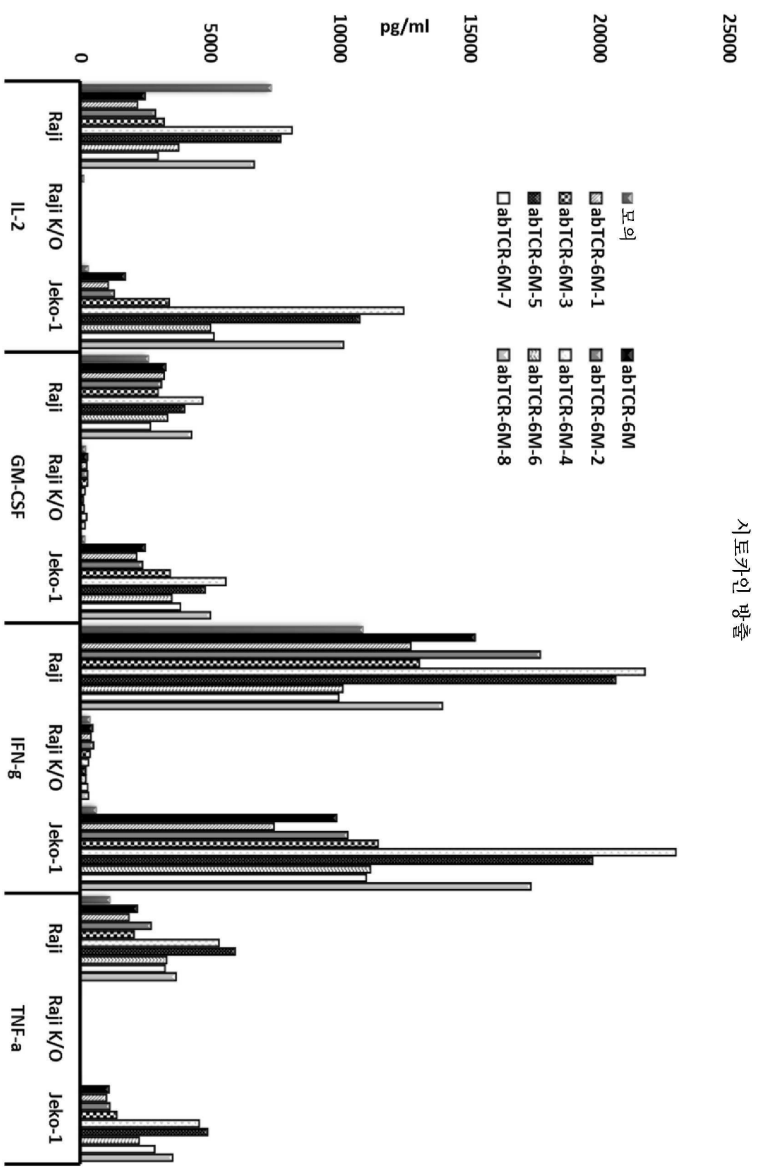
도면30


시토카인 방출
pg/ml
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
모의
abTCR-6M
abTCR-6M-1
abTCR-6M-2
abTCR-6M-3
abTCR-6M-4
abTCR-6M-5
abTCR-6M-6
abTCR-6M-7
abTCR-6M-8
IL-2
GM-CSF
IFN-g
TNF-a
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP
MG

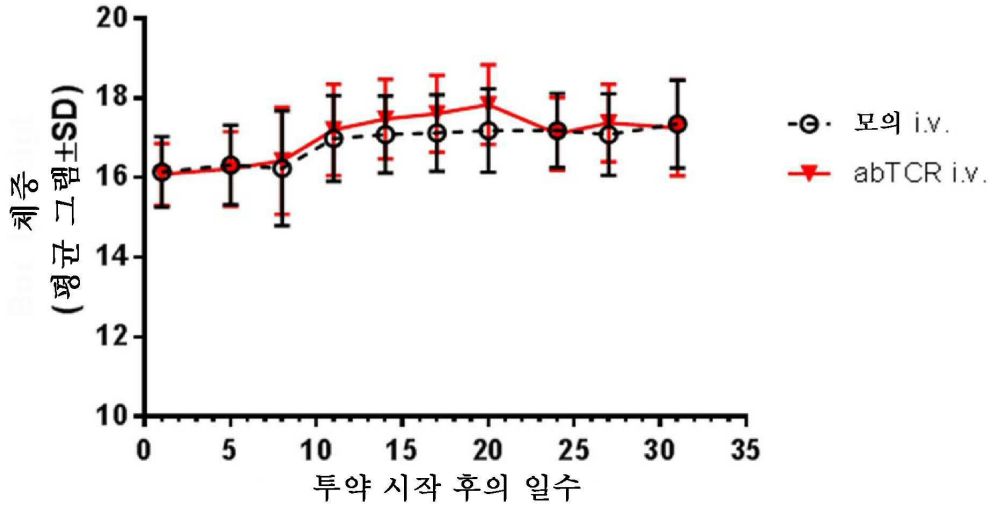
도면31


Raji
Raji-CD19ko
Jeko-1
특이적 용해 (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
모의
abTCR-6M
abTCR-6M-1
abTCR-6M-2
abTCR-6M-3
Raji
Raji-CD19ko
Jeko-1
특이적 용해 (%)
abTCR-6M
abTCR-6M-4
abTCR-6M-5
abTCR-6M-6
abTCR-6M-7
abTCR-6M-8

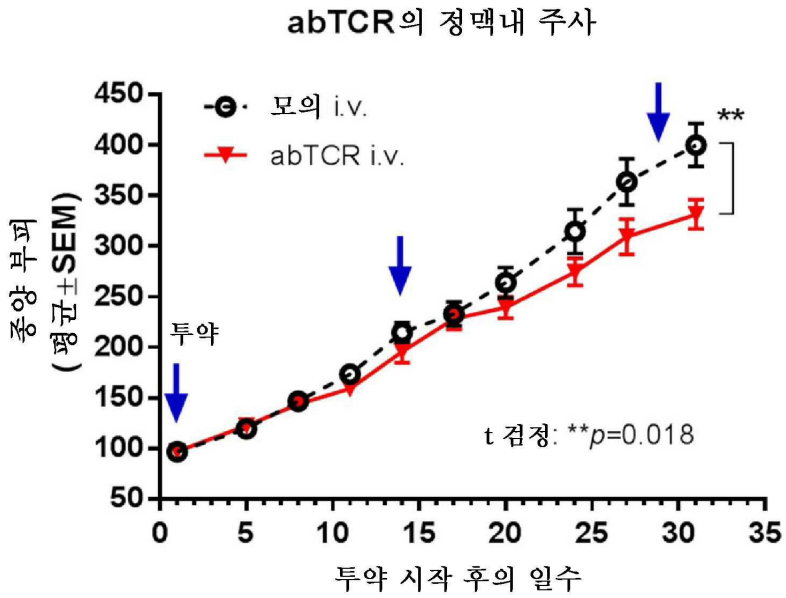
도면32


25000
20000
15000
10000
5000
0
pg/ml
사토카인 방출
모의
abTCR-6M
abTCR-6M-1
abTCR-6M-2
abTCR-6M-3
abTCR-6M-4
abTCR-6M-5
abTCR-6M-6
abTCR-6M-7
abTCR-6M-8
IL-2
GM-CSF
IFN-g
TNF-a
Raji
Raji K/O
Jeko-1

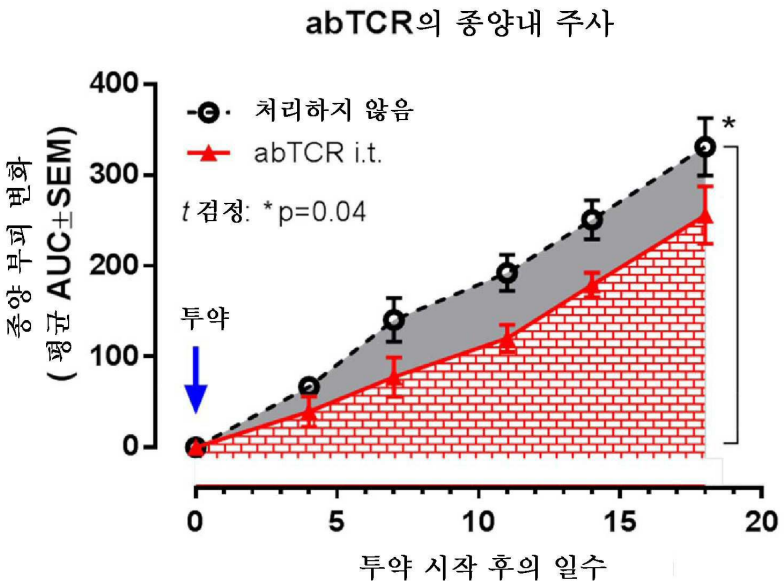
도면33


체중
(평균 그램±SD)
20
18
16
14
12
10
0
5
10
15
20
25
30
35
투약 시작 후의 일수
모의 i.v.
abTCR i.v.

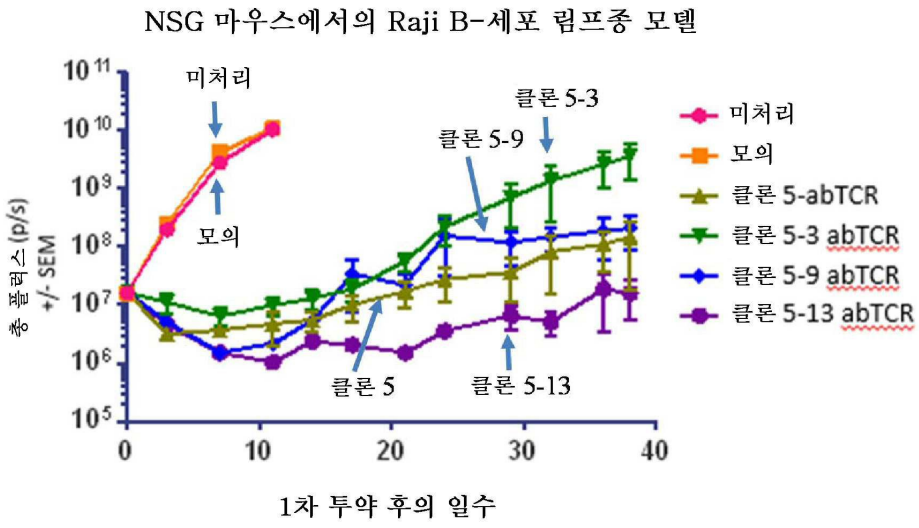
도면34a


abTCR의 정맥내 주사
종양 부피
(평균±SEM)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
5
10
15
20
25
30
35
투약 시작 후의 일수
모의 i.v.
abTCR i.v.
투약
**
t 검정: **p=0.018

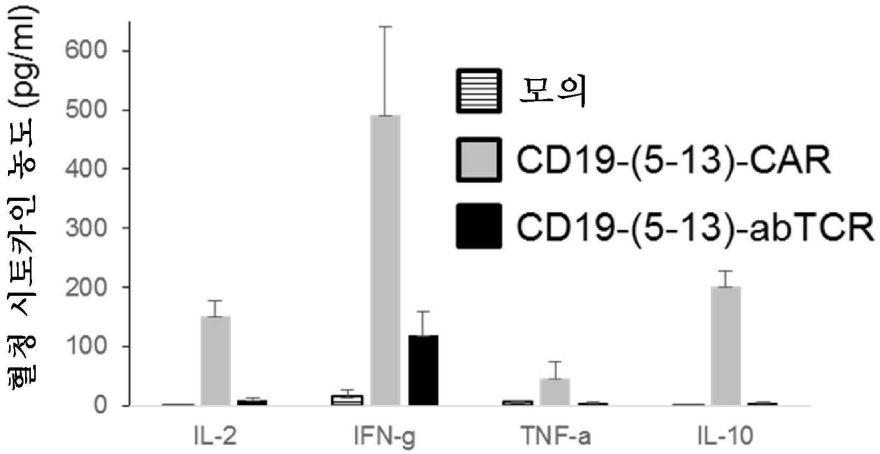
도면34b


abTCR의 종양내 주사
종양 부피 변화
(평균 AUC±SEM)
400
300
200
100
0
처리하지 않음
abTCR i.t.
t 검정: *p=0.04
*
투약
0
5
10
15
20
투약 시작 후의 일수

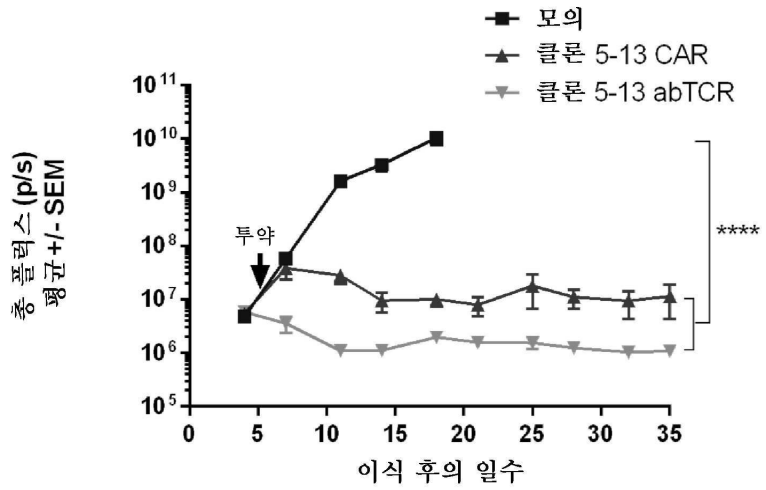
도면35


NSG 마우스에서의 Raji B-세포 림프종 모델
총 플럭스 (p/s)
+/- SEM
미처리
모의
클론 5
클론 5-9
클론 5-3
클론 5-13
미처리
모의
클론 5-abTCR
클론 5-3 abTCR
클론 5-9 abTCR
클론 5-13 abTCR
1차 투약 후의 일수

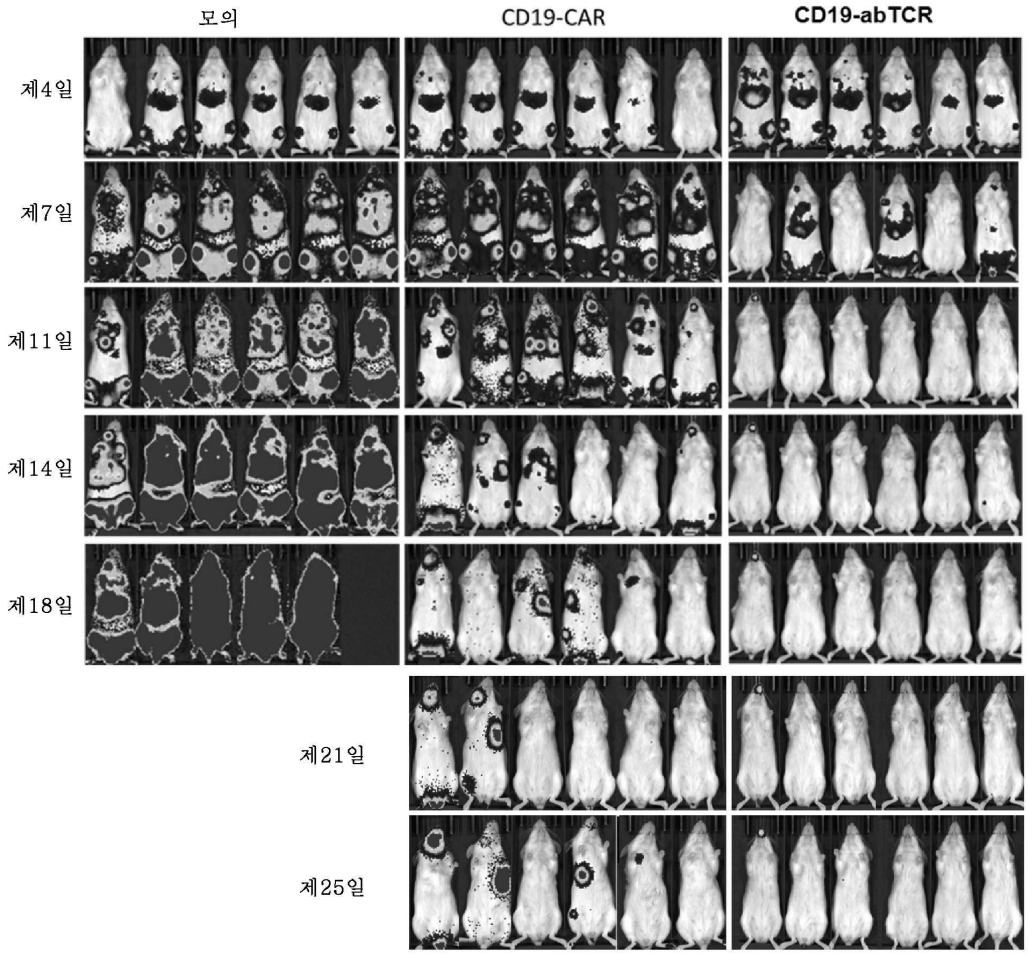
도면36


혈청 시토카인 농도 (pg/ml)
600
500
400
300
200
100
0
IL-2
IFN-g
TNF-a
IL-10
모의
CD19-(5-13)-CAR
CD19-(5-13)-abTCR

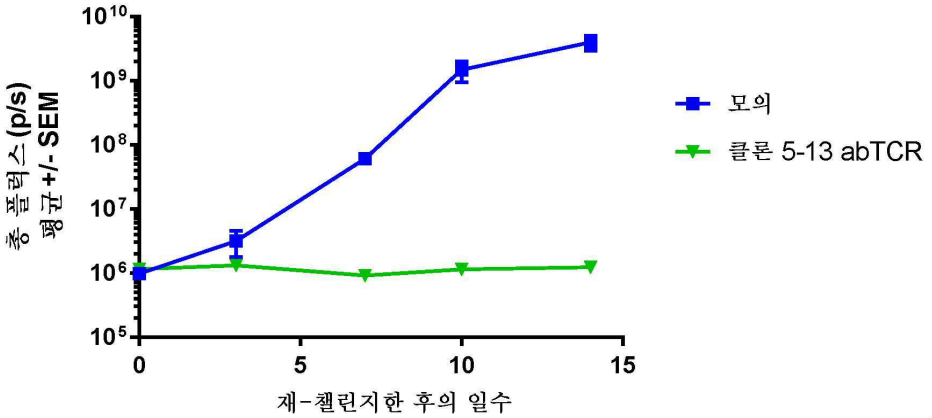
도면37


모의
클론 5-13 CAR
클론 5-13 abTCR
총 플럭스 (p/s)
평균+/- SEM
투약
****
이식 후의 일수

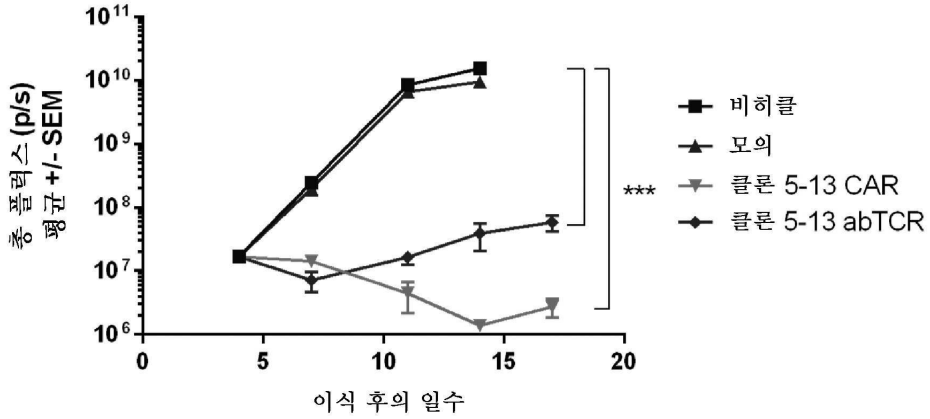
도면38


모의
CD19-CAR
CD19-abTCR
제4일
제7일
제11일
제14일
제18일
제21일
제25일

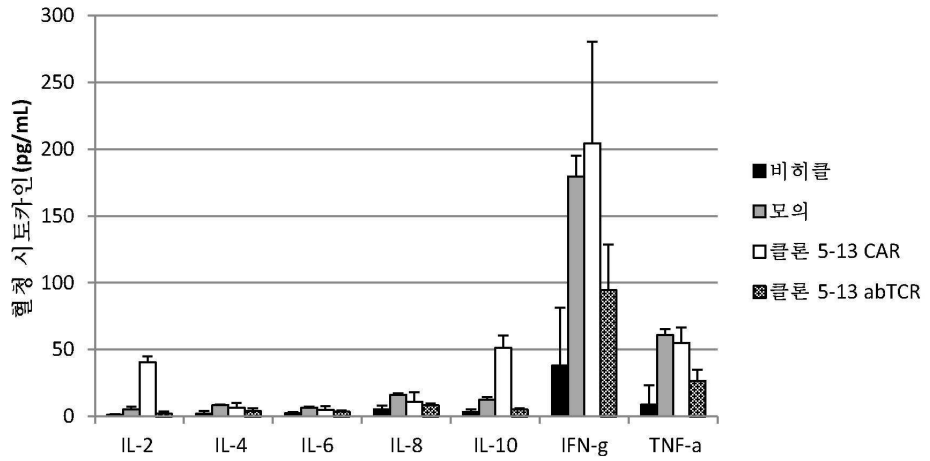
도면39


총 플럭스 (p/s) 평균 +/- SEM
재-챌린지한 후의 일수
모의
클론 5-13 abTCR

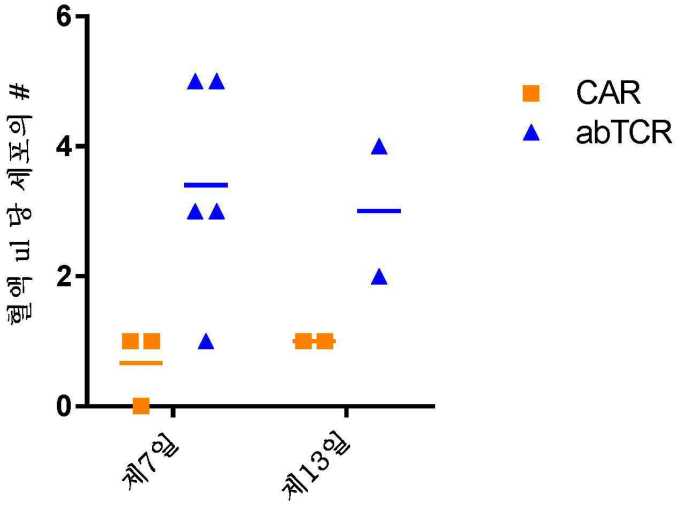
도면40



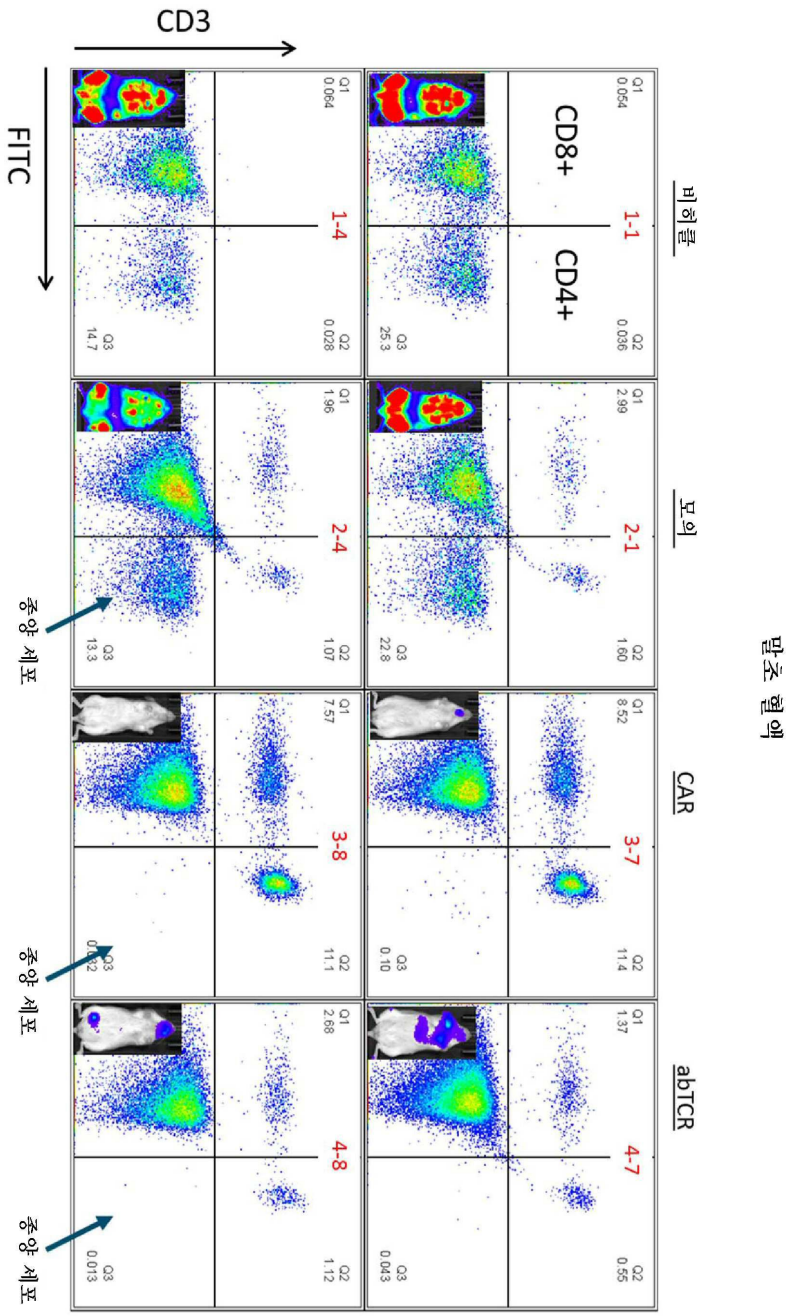
도면41



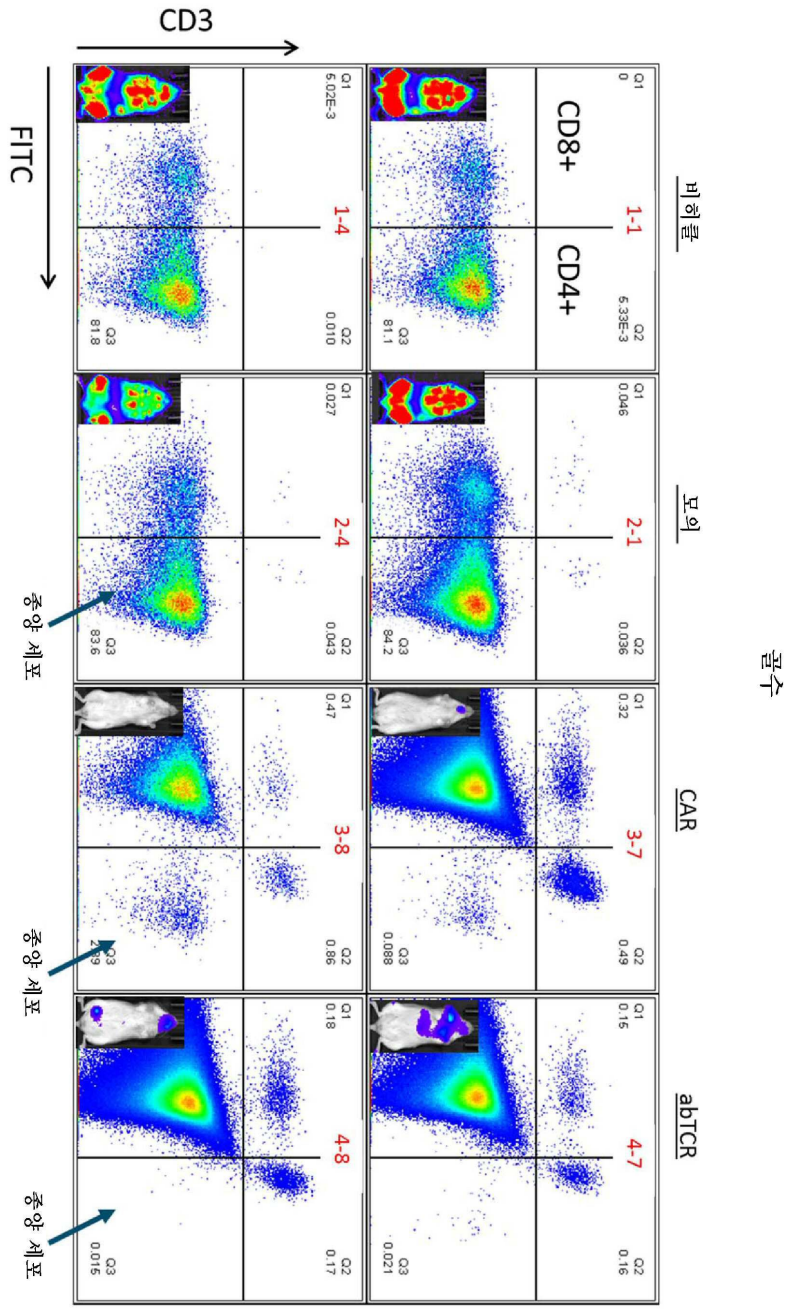
도면42



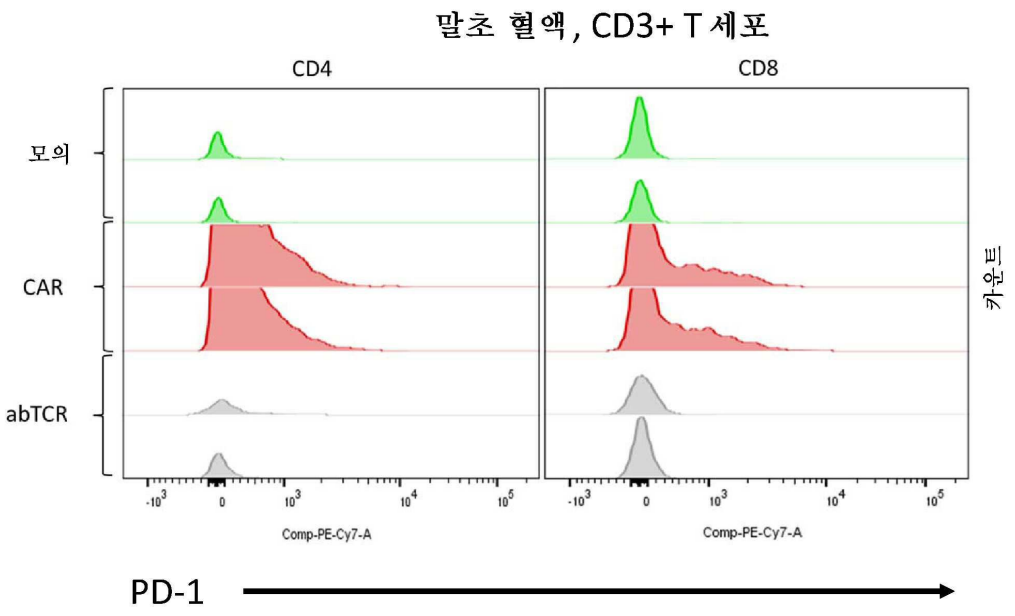
도면43


CD3
FITC
CD8+
CD4+
비히클
모의
CAR
abTCR
1-1
1-4
2-1
2-4
3-7
3-8
4-7
4-8
종양 세포
종양 세포
종양 세포
말초 혈액

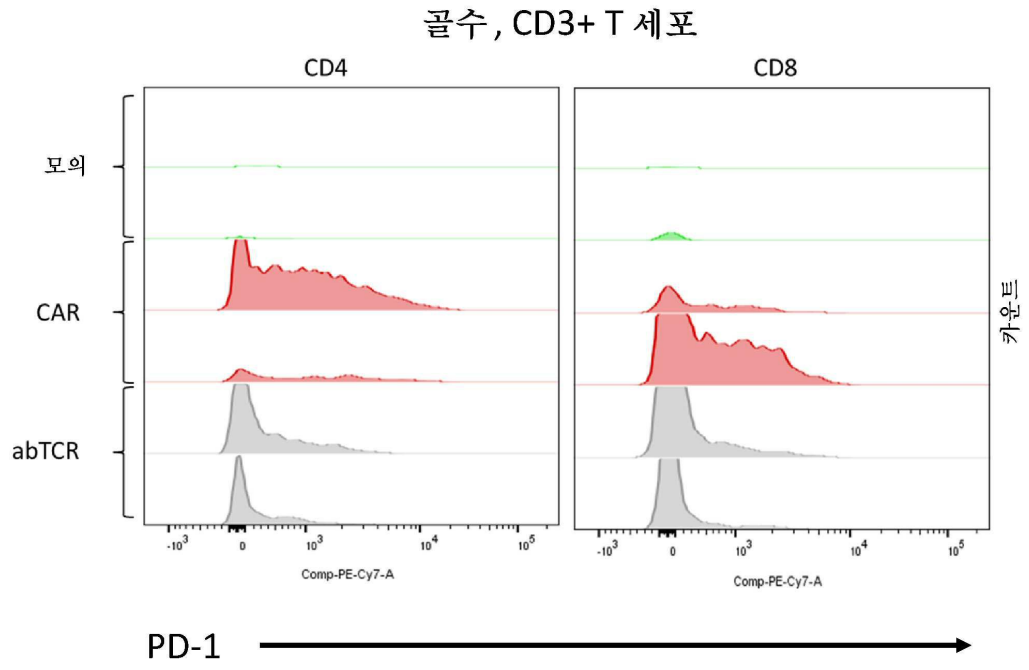
도면44


CD3
FITC
CD8+
CD4+
비히클
모의
CAR
abTCR
종양 세포
종양 세포
종양 세포
1-1
1-4
2-1
2-4
3-7
3-8
4-7
4-8
Q1 0
Q2 5.33E-3
Q3 81.1
Q1 5.02E-3
Q2 0.010
Q3 81.8
Q1 0.046
Q2 0.036
Q3 84.2
Q1 0.027
Q2 0.043
Q3 83.6
Q1 0.32
Q2 0.49
Q3 0.088
Q1 0.47
Q2 0.86
Q3 29
Q1 0.15
Q2 0.16
Q3 0.021
Q1 0.18
Q2 0.17
Q3 0.015

도면45



도면46



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Eureka Therapeutics, Inc.

<120> ANTIBODY/T-CELL RECEPTOR CHIMERIC

CONSTRUCTS AND USES THEREOF

<130> 750042000340

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 62/245,944

<151> 2015-10-23

<150> US 62/304,918

<151> 2016-03-07

<150> US 62/345,649

<151> 2016-06-03

<150> US 62/369,694

<151> 2016-08-01

<160> 82

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 20

<212> PRT

<213>

Homo sapiens

<220>

<223> TCRalpha transmembrane domain

<400> 1

Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg

1 5 10 15

Leu Trp Ser Ser

20

<210> 2

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRbeta transmembrane domain

<400> 2

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

1 5 10 15

Leu Val Ser Ala Leu Val Leu

20

<210> 3

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRdelta transmembrane domain

<400> 3

Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys

1 5 10 15

Leu Phe Phe Leu

20

<210> 4

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRgamma transmembrane domain

<400> 4

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

1 5 10 15

Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu

20

<210> 5

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRalpha connecting peptide

<400> 5

Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp

1 5 10 15

Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg
20 25 30

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRbeta connecting peptide

<400> 6

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
1 5 10 15
Ala

<210> 7

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRdelta connecting peptide

<400> 7

Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
1 5 10 15
Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
20 25 30

Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
35 40

<210> 8

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRgamma connecting peptide

<400> 8

Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu

1 5 10 15

Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala

20

<210> 9

<211> 40

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRalpha connecting peptide MD

<400> 9

Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val

1 5 10 15

Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln

20 25 30

Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg

35 40

<210> 10

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRbeta connecting peptide MD

<400> 10

Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val

1 5 10 15

Leu Ser Ala

<210> 11

<211> 48

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRdelta connecting peptide MD

<400> 11

Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu
 1   5   10   15
Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val
            20   25   30
His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
        35   40   45

<210> 12

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRgamma connecting peptide MD

<400> 12

Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
 1   5   10   15
Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
            20   25   30

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRbeta intracellular domain

<400> 13

Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

 1   5

<210> 14

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRgamma intracellular domain

<400> 14

Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
 1   5   10

<210> 15

<211> 50

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRD alpha

<400> 15

Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp
 1   5   10   15

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

            20   25   30

Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp
        35   40   45

Ser Ser
    50

<210> 16

<211> 49

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRD beta

<400> 16

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
 1   5   10   15

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

            20   25   30

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
        35   40   45

Phe

<210> 17

<211> 60

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRD alpha MD

<400> 17

Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val
1 5 10 15

Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln
20 25 30

Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
35 40 45

Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
50 55 60

<210> 18

<211> 51

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRD beta MD

<400> 18

Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val
1 5 10 15

Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu
20 25 30

Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg
35 40 45

Lys Asp Phe
50

<210> 19

<211> 61

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRD delta

<400> 19

Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
1 5 10 15

Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
20 25 30

Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val
35 40 45

Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
50 55 60

<210> 20

<211> 59

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRD gamma

<400> 20

Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
1 5 10 15

Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu
20 25 30

Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg
35 40 45

Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
50 55

<210> 21

<211> 68

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRD delta MD

<400> 21

Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu

1 5 10 15

Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val

20 25 30

His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg

35 40 45

Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys

50 55 60

Leu Phe Phe Leu

65

<210> 22

<211> 67

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRD gamma MD

<400> 22

Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser

1 5 10 15

Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly

50 55 60

Glu Lys Ser

65

<210> 23

<211> 270

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 alpha

<400> 23

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

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

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Ser Ser Cys
210 215 220

Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

<210> 24

<211> 265

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 beta

<400> 24

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

85 90 95

Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

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

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val
210 215 220
Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu
225 230 235 240
Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu
245 250 255
Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe
260 265

<210> 25

<211> 266

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 alpha

<400> 25

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

85 90 95

Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu

210 215 220

Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu

225 230 235 240

Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn

245 250 255

Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

260 265

<210> 26

<211> 269

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 beta

<400> 26

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Asp Cys Gly
210 215 220

Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu
225 230 235 240
Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser

245 250 255

Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

260 265

<210> 27

<211> 276

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD alpha

<400> 27

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

85 90 95

Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro
210 215 220
Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu
225 230 235 240
Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg
245 250 255
Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg

260 265 270
Leu Trp Ser Ser
275

<210> 28
<211> 271
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD beta
<400> 28
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Arg Ala Asp

210 215 220

Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr

225 230 235 240

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

245 250 255

Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

260 265 270

<210> 29

<211> 277

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5 delta

<400> 29

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

85 90 95

Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr

210 215 220

Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile

225 230 235 240

Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu

245 250 255

Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala

260 265 270

Lys Leu Phe Phe Leu

275

<210> 30

<211> 279

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5 gamma

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Met Asp Pro Lys

210 215 220

Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr

225 230 235 240

Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val

245 250 255

Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe

260 265 270

Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser

275

<210> 31

<211> 284

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD delta

<400> 31

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp
210 215 220
His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser
225 230 235 240
Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met
245 250 255

Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala
260 265 270
Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
275 280

<210> 32
<211> 287
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD gamma

<400> 32

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

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

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Pro Ile Lys Thr
210 215 220

Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser

275 280 285

<210> 33

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6 delta

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp His Val Lys

210 215 220

Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys

225 230 235 240

Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr

245 250 255

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

260 265 270

Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu

275 280

<210> 34

<211> 275

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6 gamma

<400> 34

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
210 215 220
Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
225 230 235 240
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
245 250 255

Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly
260 265 270
Glu Lys Ser
275
<210> 35

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD delta

<400> 35

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

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

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

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

Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr
210 215 220

Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln
225 230 235 240
Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys
245 250 255
Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala
260 265 270
Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
275 280 285

<210> 36
<211> 283
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD gamma
<400> 36
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr
210 215 220
Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
225 230 235 240

Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu
245 250 255
Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg
260 265 270
Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
275 280

<210> 37
<211> 471
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01-scFv CAR
<400> 37
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

85 90 95

Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser

100 105 110

Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

Lys Pro Gly Glu Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser

145 150 155 160

Phe Pro Asn Tyr Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly

165 170 175

Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr

180 185 190

Asn Pro Ser Phe Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr

195 200 205

Asn Thr Ala Tyr Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala

210 215 220

Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile

260 265 270

His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro

275 280 285

Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

290 295 300

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

305 310 315 320

Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

325 330 335

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

340 345 350

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp

355 360 365

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn

370 375 380

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg

385 390 395 400

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly

405 410 415

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu

420 425 430

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu

435 440 445

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

450 455 460

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

465 470

<210> 38

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgVH domain of anti-AFP158/HLA-A*02:01 antibody

<400> 38

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

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

Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 39

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgG1 CH1 domain

<400> 39

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
100

<210> 40
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> IgVL domain of AFP158/HLA-A*02:01 antibody
<400> 40
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

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

100 105 110
<210> 41
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>

<223> IgCL domain

<400> 41

Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 42

<211> 301

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD19-abTCR-6MD delta

<400> 42

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

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

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

100 105 110

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

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

130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu

180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

195 200 205

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

210 215 220

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr

225 230 235 240

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

245 250 255

Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met

260 265 270

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

275 280 285

Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu

290 295 300

<210> 43

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD19-abTCR-6MD gamma

<400> 43

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Glu Tyr
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp

210 215 220

Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln
225 230 235 240

Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys
245 250 255

Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr
260 265 270

Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
275 280

<210> 44

<211> 482

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD19-scFv CAR

<400> 44

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Glu Tyr

85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro

180 185 190

Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg

225 230 235 240

Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

245 250 255

Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr

260 265 270

Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys

275 280 285

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp

290 295 300

Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val

305 310 315 320

Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu

325 330 335

Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

340 345 350

Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

355 360 365

Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln

370 375 380

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu

385 390 395 400

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly

405 410 415

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu

420 425 430

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly

435 440 445

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser

450 455 460

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro

465 470 475 480

Pro Arg

<210> 45

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgVH domain of anti-CD19 antibody

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

100 105 110

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 46

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgVL domain of anti-CD19 antibody

<400> 46

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Glu Tyr

85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 47

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> fragment of CD28

<400> 47

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
1 5 10 15

Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly
35 40 45

Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe
50 55 60

Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn
65 70 75 80

Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr
85 90 95

Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
100 105

<210> 48

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> fragment of CD3-zeta

<400> 48

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 49

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Signal peptide

<400> 49

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly

20

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HA tag

<400> 50

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210>

51

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 3x Flag tag

<400> 51

Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr
1 5 10 15

Lys Asp Asp Asp Asp Lys
20

<210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> myc tag

<400> 52

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> AFP158

<400> 53

Phe Met Asn Lys Phe Ile Tyr Glu Ile
1 5

<210> 54

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD19 clone 5 abTCR-6MD gamma

<400> 54

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr

85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys

100 105 110

Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln

115 120 125

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

130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly

145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala

165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser

180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val

195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp

210 215 220

Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln

225 230 235 240

Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys

245 250 255

Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr

260 265 270

Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser

275 280

<210> 55

<211> 301

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD19 clone 5-9 abTCR-6MD delta

<400> 55

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

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

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Phe Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
145 150 155 160

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu

180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
195 200 205
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
210 215 220
Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr
225 230 235 240
Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
245 250 255

Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
260 265 270
Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val
275 280 285
Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
290 295 300

<210> 56
<211> 301
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> anti-CD19 clone 5-13 abTCR-6MD delta
<400> 56

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

1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

100 105 110

Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

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

130 135 140

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu

180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

195 200 205

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

210 215 220

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr

225 230 235 240

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

245 250 255

Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met

260 265 270

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

275 280 285

Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu

290 295 300

<210> 57

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgVL domain of anti-CD19 antibody clone 5

<400> 57

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 58

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgVH domain of anti-CD19 antibody clone 5-9

<400> 58

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

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

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Phe Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

100 105 110

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 59

<211> 130

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgVH domain of anti-CD19 antibody clone 5-13

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

100 105 110

Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115 120 125

Ser Ser

130

<210> 60

<211> 101

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgG2-0C CH1

<400> 60

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys

100

<210> 61

<211> 102

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgG2-1C CH1

<400> 61

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys

100

<210> 62

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgG2-2C CH1

<400> 62

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

100

<210> 63

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgG3 CH1

<400> 63

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro

100

<210> 64

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgG4 CH1

<400> 64

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly

100

<210> 65

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgA1 CH1

<400> 65

Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr

1 5 10 15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe

20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val

35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr

50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly

65 70 75 80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp

85 90 95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro

100 105 110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser

115 120

<210> 66

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgA2 CH1

<400> 66

Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Asp Ser Thr

1 5 10 15

Pro Gln Asp Gly Asn Val Val Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe

20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Asn Val

35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr

50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly

65 70 75 80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp

85 90 95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Pro Pro Pro Pro

100 105

<210> 67

<211> 159

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgD CH1

<400> 67

Ala Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg
1 5 10 15

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

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

Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro
145 150 155
<210> 68
<211> 103
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> IgE CH1
<400> 68
Ala Ser Thr Gln Ser Pro Ser Val Phe Pro Leu Thr Arg Cys Cys Lys
1 5 10 15
Asn Ile Pro Ser Asn Ala Thr Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Ala Thr
20 25 30

Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Met Val Thr Trp Asp Thr Gly Ser Leu

35 40 45

Asn Gly Thr Thr Met Thr Leu Pro Ala Thr Thr Leu Thr Leu Ser Gly

50 55 60

His Tyr Ala Thr Ile Ser Leu Leu Thr Val Ser Gly Ala Trp Ala Lys

65 70 75 80

Gln Met Phe Thr Cys Arg Val Ala His Thr Pro Ser Ser Thr Asp Trp

85 90 95

Val Asp Asn Lys Thr Phe Ser

100

<210> 69

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgM CH1

<400> 69

Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn

1 5 10 15

Ser Pro Ser Asp Thr Ser Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp

20 25 30

Phe Leu Pro Asp Ser Ile Thr Leu Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser

35 40 45

Asp Ile Ser Ser Thr Arg Gly Phe Pro Ser Val Leu Arg Gly Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Thr Asp Glu His Val Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn

85 90 95

Lys Glu Lys Asn Val Pro Leu Pro

100

<210> 70

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28 co-stimulatory fragment

<400> 70

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 71

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 4-1BB co-stimulatory fragment

<400> 71

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 72

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IgVH domain of anti-NY-ESO-1/HLA-A*02:01
antibody clone 35

<400> 72

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

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

Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> IgVL domain of anti-NY-ESO-1/HLA-A*02:01
antibody clone 35
<400> 73
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu

85 90 95

Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

100 105 110

<210> 74

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> scFv linker

<400> 74

Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Glu Met Ala

20

<210> 75

<211> 284

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD19-cTCR delta

<400> 75

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110

Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser Arg Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe Val Met Lys
130 135 140
Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr Pro Lys Asp
145 150 155 160
Ile Arg Ile Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu Phe Asp Pro
165 170 175

Ala Ile Val Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn Ala Val Lys Leu Gly
180 185 190
Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln His Asp Asn
195 200 205
Lys Thr Val His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp
210 215 220
His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser
225 230 235 240

Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met
245 250 255
Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala
260 265 270
Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
275 280

<210> 76
<211> 282
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-CD19-cTCR gamma

<400> 76

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr

85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Asp Lys Gln

100 105 110

Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu Pro Ser Ile

115 120 125

Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys Leu Leu Glu

130 135 140

Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu Lys Lys Ser

145 150 155 160

Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys Thr Asn Asp

165 170 175

Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys Ser Leu Asp

180 185 190

Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys Asn Gly Val

195 200 205

Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met

210 215 220

Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu
225 230 235 240
Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu
245 250 255
Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg

260 265 270
Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
275 280

<210> 77
<211> 142
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> TCRalpha constant domain
<400> 77
Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser
1 5 10 15
Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
20 25 30

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

Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
100 105 110
Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
115 120 125
Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

130 135 140

<210> 78

<211> 177

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRbeta constant domain

<400> 78

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

1 5 10 15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu

20 25 30

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

35 40 45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp

100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg

115 120 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp

165 170 175

Phe

<210> 79

<211> 153

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRdelta constant domain

<400> 79

Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe Val Met Lys Asn Gly Thr

1 5 10 15

Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Arg Ile

20 25 30

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

35 40 45

Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn Ala Val Lys Leu Gly Lys Tyr Glu

50 55 60

Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln His Asp Asn Lys Thr Val

65 70 75 80

His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys

85 90 95

Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys

100 105 110

Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr

115 120 125

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

130 135 140

Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu

145 150

<210> 80

<211> 173

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TCRgamma constant domain

<400> 80

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

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

Leu Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu
35 40 45

Lys Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys
50 55 60

Thr Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys
65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys
85 90 95

Asn Gly Val Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val
100 105 110

Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr
115 120 125

Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu
145 150 155 160

Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
165 170

<210> 81

<211> 271

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 delta

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Arg Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe

115 120 125

Val Met Lys Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr

130 135 140

Pro Lys Asp Ile Arg Ile Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Leu Gly Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln

180 185 190

His Asp Asn Lys Thr Val His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp

195 200 205

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

210 215 220

Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val

225 230 235 240

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

245 250 255

Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
260 265 270

<210> 82

<211> 283

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> anti-AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 gamma

<400> 82

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95

Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Asp Lys
100 105 110

Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu Pro Ser
115 120 125

Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys Leu Leu

130 135 140

Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu Lys Lys

145 150 155 160

Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys Thr Asn
165 170 175

Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys Ser Leu

180 185 190

Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys Asn Gly

195 200 205

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

210 215 220

Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu

225 230 235 240

Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu

245 250 255

Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg

260 265 270

Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser

275 280