(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0130128
(43) 공개일자 2024년08월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/725 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/7051 (2013.01)
A61K 39/4611 (2023.05)
(21) 출원번호 10-2024-7025889
(22) 출원일자(국제) 2023년01월05일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년07월31일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2023/050194
(87) 국제공개번호 WO 2023/131657
국제공개일자 2023년07월13일
(30) 우선권주장
22382003.6 2022년01월05일
유럽특허청(EPO)(EP)
22205399.3 2022년11월03일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
기알라 테라퓨틱스 소시에다드 리미타다
스페인 바르셀로나 파세오 데 그라시아 54 02 디 (우: 08007)
호스피탈 크리닉 드 바르셀로나
스페인 08036 바르셀로나 170 빌라로엘 내
푼다시오 데 레세르카 클리닉 바르셀로나-인스티튜트 디 ' 인베스티가시온스 바이오메디케스 아우구스트 피 아이 수니에르
스페인, 바르셀로나 08036, 149-153, 씨/로셀로
(72) 발명자
클라인 곤잘레스, 넬라
스페인 이-08017 바르셀로나 2엔-2에이 10 카예 몽 도르사
후안 오테로, 마누엘
스페인 이-08940 코르넬라 델 요브레가트 11 카예 닥터 발렌티 카룰라 이 메르게나트
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인(유)남아이피그룹

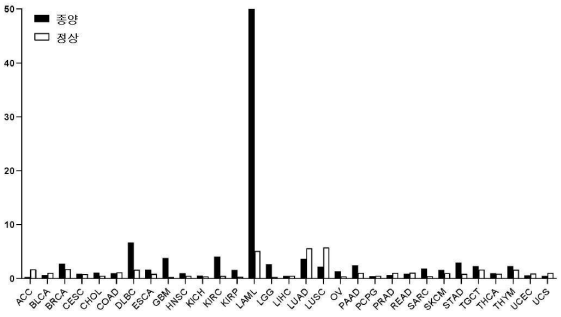
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **항-CD84 항체 및 키메라 항원 수용체**

(57) 요 약

CD84에 결합하는 항원-결합 도메인, 항체 또는 키메라 항원 수용체.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 39/4631 (2023.05)
A61K 39/464429 (2023.05)
A61P 35/02 (2018.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
C07K 16/2866 (2013.01)
C07K 16/2887 (2013.01)
C07K 16/2896 (2013.01)
C12N 5/0636 (2023.05)
A61K 2239/48 (2023.05)
(72) 발명자
빌렐라 푸이그, 라몬
스페인 이-08004 바르셀로나 아틱 2ª 7 카예 마타
페레즈 아밀, 로레나
스페인 이-08238 산 퀴르제 델 발레스 20 아베니다 라 플라나
리베이로 도스 산토스, 클라우디오 호아오
스페인 이-37001 살라망카 3º이 4 플라자 바실리오스

명 세 서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는 항원-결합 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR):

a) 서열: CDR1 - NYWIN(SEQ ID NO: 1); CDR2 - DIYPVSGTTNYNEKFKR(SEQ ID NO: 2); 및 CDR3 - GTGRFAY(SEQ ID NO: 3); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 4); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 5); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 6); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

b) 서열: CDR1 - NYWLG(SEQ ID NO: 7); CDR2 - DIYPGGGYTNYIEKFKG(SEQ ID NO: 8); 및 CDR3 - YEGGYYGNYDAMDY(SEQ ID NO: 9), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO: 10); CDR2 - AASNQGS(SEQ ID NO: 11); 및 CDR3 - QQSKAVPRT(SEQ ID NO: 12), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

c) 서열: CDR1 - GFTFSSYA(SEQ ID NO: 13); CDR2 - ISGSGGST(SEQ ID NO: 14); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 15), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - NIESKD(SEQ ID NO: 16); CDR2 - DDA(SEQ ID NO: 17); 및 CDR3 - QVWDSSSDHVV(SEQ ID NO: 18), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

d) 서열: CDR1 - GFTFSSYP(SEQ ID NO: 19); CDR2 - ISYHGRNK(SEQ ID NO: 20); 및 CDR3 - ARDRDATPGGTGVGNHGMAV(SEQ ID NO: 21), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - QSLLHSSGYNY(SEQ ID NO: 22); CDR2 - MGS(SEQ ID NO: 23); 및 CDR3 - MQGLQTPPT(SEQ ID NO: 24), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

e) 서열: CDR1 - GFTFSDNA(SEQ ID NO: 25); CDR2 - ISGTGRTT(SEQ ID NO: 26); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 27), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - QSLVYSDGDTY(SEQ ID NO: 28); CDR2 - KVS(SEQ ID NO: 29); 및 CDR3 - MQGTHWPPNT(SEQ ID NO: 30), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

f) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 31); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 32); 및 CDR3 - MRTSYYFDY(SEQ ID NO: 33), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASENIFSSLA(SEQ ID NO: 34); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 35); 및 CDR3 - QHHYATPFT(SEQ ID NO: 36), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

g) 서열: CDR1 - SYWIN(SEQ ID NO: 37); CDR2 - DIYLGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 38); 및 CDR3 -

SGGYLGY(SEQ ID NO: 39), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 40); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 41); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 42), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

h) 서열: CDR1 - NYWIG(SEQ ID NO: 43); CDR2 - DIYPGGGYTNYNENFKG(SEQ ID NO: 44); 및 CDR3 - STTYYSSYWCFDV(SEQ ID NO: 45), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - KSSQSLLNSGNQANYLA(SEQ ID NO: 46); CDR2 - GASTRES(SEQ ID NO: 47); 및 CDR3 - QNDHSYPFT(SEQ ID NO: 48), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

i) 서열: CDR1 - RYWMS(SEQ ID NO: 49); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 50); 및 CDR3 - PGPTVVATYWYFDV(SEQ ID NO: 51), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGNTYLE(SEQ ID NO: 52); CDR2 - KVSSRFS(SEQ ID NO: 53); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 54), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

j) 서열: CDR1 - RYWIN(SEQ ID NO: 55); CDR2 - DIYPGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 56); 및 CDR3 - DTTIAY(SEQ ID NO: 57), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASQSVTTSRYSYMH(SEQ ID NO: 58); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 59); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 60), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

k) 서열: CDR1 - GYNMN(SEQ ID NO: 131); CDR2 - NIDPYYGGTNYNQKFKG(SEQ ID NO: 132); 및 CDR3 - GLLSGSFPY(SEQ ID NO: 133), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASENIYSYLA(SEQ ID NO: 134); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 135); 및 CDR3 - QHHYGSPLT(SEQ ID NO: 136), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

l) 서열: CDR1 - RSWMS(SEQ ID NO: 137); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 138); 및 CDR3 - FYDGYSIYWYFDV(SEQ ID NO: 139), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGDTYLE(SEQ ID NO: 140); CDR2 - KVSNRFS(SEQ ID NO: 141); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 142), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

m) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 143); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALRS(SEQ ID NO: 144); 및 CDR3 - IAVTYFFDF(SEQ ID NO: 145), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASENIFSSFA(SEQ ID NO: 146); CDR2 - NARTLAE(SEQ ID NO: 147); 및 CDR3 - QHHYASPFT(SEQ ID NO: 148), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

n) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 149); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 150); 및 CDR3 - MSTSYYFDY(SEQ ID NO: 151), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - KASQSLFTSVA(SEQ ID NO: 152); CDR2 - SASYRYT(SEQ ID NO: 153); 및 CDR3 - QQHYSSPFT(SEQ ID NO: 154), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

o) 서열: CDR1 - IYAMN(SEQ ID NO: 155); CDR2 - RIRSKSNNYARFYADSVKD(SEQ ID NO: 156); 및 CDR3 - PLRSYFSMDY(SEQ ID NO: 157), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - KASENVDTYVS(SEQ ID NO: 158); CDR2 - GASNRYT(SEQ ID NO: 159); 및 CDR3 - GQTYSYPWT(SEQ ID NO: 160), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).

청구항 2

제1항에 있어서, 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는 CAR:

a) SEQ ID NO: 61의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 62 또는 108의 서열을 갖는 VL 도메인;

b) SEQ ID NO: 63의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 64 또는 109의 서열을 갖는 VL 도메인;

c) SEQ ID NO: 65의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 66의 서열을 갖는 VL 도메인;

d) SEQ ID NO: 68의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 69의 서열을 갖는 VL 도메인;

e) SEQ ID NO: 71의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 72의 서열을 갖는 VL 도메인;

f) SEQ ID NO: 74의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 75의 서열을 갖는 VL 도메인;

g) SEQ ID NO: 76의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 77의 서열을 갖는 VL 도메인;

h) SEQ ID NO: 78의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 79의 서열을 갖는 VL 도메인;

i) SEQ ID NO: 80의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 81의 서열을 갖는 VL 도메인;

j) SEQ ID NO: 82의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 83의 서열을 갖는 VL 도메인;

k) SEQ ID NO: 161의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 162의 서열을 갖는 VL 도메인;

l) SEQ ID NO: 163의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 164의 서열을 갖는 VL 도메인;

m) SEQ ID NO: 165의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 166의 서열을 갖는 VL 도메인;

n) SEQ ID NO: 167의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 168의 서열을 갖는 VL 도메인; 또는

o) SEQ ID NO: 169의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 170의 서열을 갖는 VL 도메인;

또는 각각이 이와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

a) CAR이 scFv CAR이고/거나;

b) CAR이 CD8a 막횡단 도메인을 포함하고/거나;

c) CAR이 4-1BB 또는 CD28 공동-자극 도메인을 포함하고/거나;

d) CAR이 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함하는, CAR.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 CAR을 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 5

제4항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

청구항 6

제4항의 폴리뉴클레오티드 또는 제5항의 벡터를 포함하는 세포.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 CAR을 포함하는 세포.

청구항 8

제1 CAR 및 제2 CAR을 포함하는 세포로서, 제1 CAR이 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 CAR이고, 선택적으로 제2 CAR이 항-CD19 CAR, 항-CD20 CAR, 항-CD22 CAR, 항-CD33 CAR, 항-CD123 CAR; 또는 항-CD7 CAR인, 세포.

청구항 9

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 T 세포 또는 NK 세포이고, 선택적으로 세포가 자가 또는 동종이계 세포인 세포.

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 CAR, 제4항의 폴리뉴클레오티드, 제5항의 벡터, 또는 제6항 내지 제9항 중 어느 한 항의 세포를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 11

요법에 사용하기 위한 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 CAR, 제4항의 폴리뉴클레오티드, 제5항의 벡터, 제6항 내지 제9항 중 어느 한 항의 세포, 또는 제10항의 약학적 조성물로서, 선택적으로 상기 요법이 암의 치료인 CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 약학적 조성물,

청구항 12

제11항에 있어서, 암이 혈액 악성종양, 선택적으로 CD84-발현 혈액 악성종양이고/거나, 암이 만성 림프구성 백혈병(CLL), B-세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 버킷 림프종, 소포 림프종, 외투 세포 림프종, B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군, T-세포 급성 림프모구성 백혈병/림프종(T-ALL), 만성 골수증식성 증후군, 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수단구성 백혈병, 수지상-세포 신생물 및 조직구 육종으로 구성된 군으로부터 선택되는 CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 약학적 조성물.

청구항 13

다음을 포함하는 항원-결합 도메인:

a) 서열: CDR1 - NYWIN(SEQ ID NO: 1); CDR2 - DIYPVSGTTNYNEKFKR(SEQ ID NO: 2); 및 CDR3 - GTGRFAY(SEQ ID NO: 3); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 4); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 5); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 6); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

b) 서열: CDR1 - NYWLG(SEQ ID NO: 7); CDR2 - DIYPGGGYTNYIEKFKG(SEQ ID NO: 8); 및 CDR3 - YEGGYYGNYDAMDY(SEQ ID NO: 9), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO: 10); CDR2 - AASNQGS(SEQ ID NO: 11); 및 CDR3 - QQSKAVPRT(SEQ ID NO: 12), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

c) 서열: CDR1 - GFTFSSYA(SEQ ID NO: 13); CDR2 - ISGSGGST(SEQ ID NO: 14); 및 CDR3 -

AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 15), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - NIESKD(SEQ ID NO: 16); CDR2 - DDA(SEQ ID NO: 17); 및 CDR3 - QVWDSSSDHVV(SEQ ID NO: 18), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

d) 서열: CDR1 - GFTFSSYP(SEQ ID NO: 19); CDR2 - ISYHGRNK(SEQ ID NO: 20); 및 CDR3 - ARDRDATPGGTGVGNHGMAV(SEQ ID NO: 21), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - QSLLHSSGYNY(SEQ ID NO: 22); CDR2 - MGS(SEQ ID NO: 23); 및 CDR3 - MQGLQTPPT(SEQ ID NO: 24), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

e) 서열: CDR1 - GFTFSDNA(SEQ ID NO: 25); CDR2 - ISGTGRTT(SEQ ID NO: 26); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 27), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - QSLVYSDGDTY(SEQ ID NO: 28); CDR2 - KVS(SEQ ID NO: 29); 및 CDR3 - MQGTHWPPNT(SEQ ID NO: 30), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

f) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 31); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 32); 및 CDR3 - MRTSYYFDY(SEQ ID NO: 33), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASENIFSSLA(SEQ ID NO: 34); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 35); 및 CDR3 - QHHYATPFT(SEQ ID NO: 36), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

g) 서열: CDR1 - SYWIN(SEQ ID NO: 37); CDR2 - DIYLGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 38); 및 CDR3 - SGGYLGY(SEQ ID NO: 39), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 40); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 41); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 42), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

h) 서열: CDR1 - NYWIG(SEQ ID NO: 43); CDR2 - DIYPGGGYTNYNENFKG(SEQ ID NO: 44); 및 CDR3 - STTYYSSYWCFDV(SEQ ID NO: 45), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - KSSQSLLNSGNQANYLA(SEQ ID NO: 46); CDR2 - GASTRES(SEQ ID NO: 47); 및 CDR3 - QNDHSYPFT(SEQ ID NO: 48), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

i) 서열: CDR1 - RYWMS(SEQ ID NO: 49); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 50); 및 CDR3 - PGPTVVATYWYFDV(SEQ ID NO: 51), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGNTYLE(SEQ ID NO: 52); CDR2 - KVSSRFS(SEQ ID NO: 53); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 54), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

j) 서열: CDR1 - RYWIN(SEQ ID NO: 55); CDR2 - DIYPGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 56); 및 CDR3 - DTTIAY(SEQ ID NO: 57), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASQSVTTSRYSYMH(SEQ ID NO: 58); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 59); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 60), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

k) 서열: CDR1 - GYNMN(SEQ ID NO: 131); CDR2 - NIDPYYGGTNYNQKFKG(SEQ ID NO: 132); 및 CDR3 - GLLSGSFPY(SEQ ID NO: 133), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASENIYSYLA(SEQ ID NO: 134); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 135); 및 CDR3 - QHHYGSPLT(SEQ ID NO: 136), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

l) 서열: CDR1 - RSWMS(SEQ ID NO: 137); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 138); 및 CDR3 - FYDGYSIYWYFDV(SEQ ID NO: 139), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGDTYLE(SEQ ID NO: 140); CDR2 - KVSNRFS(SEQ ID NO: 141); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 142), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

m) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 143); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALRS(SEQ ID NO: 144); 및 CDR3 - IAVTYFFDF(SEQ ID NO: 145), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - RASENIFSSFA(SEQ ID NO: 146); CDR2 - NARTLAE(SEQ ID NO: 147); 및 CDR3 - QHHYASPFT(SEQ ID NO: 148), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

n) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 149); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 150); 및 CDR3 - MSTSYYFDY(SEQ ID NO: 151), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - KASQSLFTSVA(SEQ ID NO: 152); CDR2 - SASYRYT(SEQ ID NO: 153); 및 CDR3 - QQHYSSPFT(SEQ ID NO: 154), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

o) 서열: CDR1 - IYAMN(SEQ ID NO: 155); CDR2 - RIRSKSNNYARFYADSVKD(SEQ ID NO: 156); 및 CDR3 - PLRSYFSMDY(SEQ ID NO: 157), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

서열: CDR1 - KASENVDTYVS(SEQ ID NO: 158); CDR2 - GASNRYT(SEQ ID NO: 159); 및 CDR3 - GQTYSYPWT(SEQ ID NO: 160), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).

청구항 14

제13항의 항원-결합 도메인을 포함하는 항체.

청구항 15

샘플에서 CD84 발현 수준을 결정하기 위한, 선택적으로 대상체로부터의 샘플에서 CD84 발현 수준을 분석하기 위한 제13항의 항원-결합 도메인, 또는 제14항의 항체의 용도.

청구항 16

항-CD84 CAR 또는 항체로 치료하기에 적합한 대상체를 확인하는 방법으로서, 상기 방법이 대상체로부터 분리된 샘플에서 CD84 발현 수준을 결정하는 단계를 포함하고, 여기서 CD84 발현 수준이 제13항의 항원-결합 도메인, 또는 제14항의 항체를 사용하여 결정되는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **발명의 분야**

[0002] 본 발명은 항-CD84 항체 및 키메라 항원 수용체(CAR), 및 요법, 특히 암 요법에서의 이들의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 샘플에서 CD84 수준을 결정하고 항-CD84 항체 또는 CAR을 사용한 치료에 적합한 대상체를 확인하기 위한 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] **발명의 배경**

[0004] 인간 CD84 단백질은 1993년에 처음 확인된 "분화 클러스터"이다. CD84의 시퀀싱은 이를 Slam(*신호전달 림프구 활성화 분자*) 패밀리의 구성원으로 확인하였다.

[0005] CD84 수용체의 세포외 부분은 SLAM 패밀리의 모든 구성원에 공통적이고 CD2와 유사한 구조인 비정규 IgV 원위 도메인 및 IgC2g 근위 도메인을 함유한다. CD84는 호모필릭(homophilic) 접착 분자로서 기능하고; 수용체:리간드 상호작용은 IgV 도메인을 포함하고 사이토플라스틱(cytoplastic) 도메인과 무관하며, SLAM 패밀리의 다른 분자에 대한 CD84의 결합을 방지하는 호모필릭 계면에 특정한 차이가 존재한다.

[0006] 인간 CD84는 다양한 유형의 면역 세포에서 발현된다. 발현 수준은 세포 유형 및 이의 분화 또는 활성화 상태에 따라 이질적이다. CD84는 골수 전구 세포에서 조혈 분화 동안 매우 초기에 나타나며 대부분의 T 및 B 세포에서 발현되지만, 기억 T 및 B 림프구, 소포 *헬퍼* T 세포 및 배중심 B 세포에서 더 높은 발현을 갖는다. 단핵구 및 단핵구-유래 수지상 세포(DC)와 같은 골수 항원-제시 세포는 또한 CD84에 양성이다. 과립구는 또한 호염기구 및 비만 세포에서 가장 높은 발현을 보이며 상당한 수준의 CD84를 발현한다. 모든 조혈 세포 중에서, 혈소판은 최고 수준의 CD84를 발현하며, 이는 초기에 혈소판-혈소판 상호작용을 안정화시키는 것과 관련된 응집-유도 신호전달 수용체로서 제안되었다. 그러나, CD84-결핍 마우스에 대한 연구는 이것이 지혈 및 혈전 기능에서 중요한 역할을 하지 않는다는 것을 나타낸다. CD84 발현은 자연 살해 세포(NK)에서 낮고 적혈구에는 존재하지 않는다.

[0007] CD84 신호전달은 세포 유형 및 이의 활성화 또는 분화 단계에 따라 백혈구 기능을 활성화하거나 억제할 수 있다. CD84-매개 신호전달은 T-세포 사이토카인 분비, 자연 살해-세포 세포독성, 단핵구 활성화, 자가포식, 동족 T:B 상호작용 및 B-세포 내성을 포함하는 다양한 면역학적 과정을 배중심 수준에서 조절한다.

[0008] CD84의 변경은 자가면역 장애와 관련이 있다. 예를 들어, CD84의 특정 대립유전자 변이는 전신 홍반성 루푸스 및 류마티스 관절염(RA)과 같은 자가면역 질환과 관련이 있다. 이러한 자가면역 질환에 대한 통상적인 치료는 종종 질병-수정 항류마티스 약물(DMARDS)을 포함하며, 이는 완치는 아니지만 증상 및/또는 질병 진행을 정지시키거나 늦춘다.

[0009] CD84는 특정 암, 특히 혈액 악성종양, 예를 들어, 만성 림프구성 백혈병(CLL)에서 발현된다.

[0010] 혈액 악성종양은 종종 알려진 부작용이 있는 화학요법 또는 방사선요법으로 치료된다. 따라서, 혈액 악성종양에 대한 개선된 치료를 위한 상당한 요구가 여전히 존재한다.

발명의 내용

[0011] **발명의 개요**

[0012] 본 발명자들은 CD84가 버킷 림프종, 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병(CML), B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL), T-세포 급성 림프모구성 백혈병(T-ALL) 및 조직구 림프종을 포함하는 악성 혈액 질환으로부터 유래된 다양한 암 세포주에서 과발현된다는 것을 확인하였다.

[0013] 본 발명자들은 CD84에 결합하는 다양한 항체 및 키메라 항원 수용체(CAR)를 연구하고 개발하였다.

[0014] 특히, 본 발명자들은, 예를 들어, 다양한 표적 암 세포주에 대한 증식, 사이토카인 생산 및 세포독성의 결정을 통해 CAR 및 기능적으로 특성화된 CAR-T 세포의 세포 발현을 특성화하였다. 또한, 본 발명자들은 본 발명의 키

메라 항원 수용체가 CD84를 발현하는 암 세포에서 세포독성을 유도할 수 있음을 입증하였다.

[0015] 따라서, 본 발명은 다음을 포함하는 항원-결합 도메인을 제공한다:

[0016] a) 서열: CDR1 - NYWIN(SEQ ID NO: 1); CDR2 - DIYPVSGTTNYNEKFKR(SEQ ID NO: 2); 및 CDR3 - GTGRFAY(SEQ ID NO: 3); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0017] 서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 4); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 5); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 6); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0018] b) 서열: CDR1 - NYWLG(SEQ ID NO: 7); CDR2 - DIYPGGGYTNYIEKFKG(SEQ ID NO: 8); 및 CDR3 - YEGGYYGNYDAMDY(SEQ ID NO: 9), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0019] 서열: CDR1 - RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO: 10); CDR2 - AASNQGS(SEQ ID NO: 11); 및 CDR3 - QQSKAVPRT(SEQ ID NO: 12), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0020] c) 서열: CDR1 - GFTFSSYA(SEQ ID NO: 13); CDR2 - ISGSGGST(SEQ ID NO: 14); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 15), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0021] 서열: CDR1 - NIESKD(SEQ ID NO: 16); CDR2 - DDA(SEQ ID NO: 17); 및 CDR3 - QVWDSSSDHVV(SEQ ID NO: 18), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0022] d) 서열: CDR1 - GFTFSSYP(SEQ ID NO: 19); CDR2 - ISYHGRNK(SEQ ID NO: 20); 및 CDR3 - ARDRDATPGGTGVGNHGMAV(SEQ ID NO: 21), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0023] 서열: CDR1 - QSLLHSSGYNY(SEQ ID NO: 22); CDR2 - MGS(SEQ ID NO: 23); 및 CDR3 - MQGLQTPPT(SEQ ID NO: 24), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0024] e) 서열: CDR1 - GFTFSDNA(SEQ ID NO: 25); CDR2 - ISGTGRTT(SEQ ID NO: 26); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 27), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0025] 서열: CDR1 - QSLVYSDGDTY(SEQ ID NO: 28); CDR2 - KVS(SEQ ID NO: 29); 및 CDR3 - MQGTHWPPNT(SEQ ID NO: 30), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0026] f) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 31); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 32); 및 CDR3 - MRTSYYFDY(SEQ ID NO: 33), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0027] 서열: CDR1 - RASENIFSSLA(SEQ ID NO: 34); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 35); 및 CDR3 - QHHYATPFT(SEQ ID NO: 36), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0028] g) 서열: CDR1 - SYWIN(SEQ ID NO: 37); CDR2 - DIYLGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 38); 및 CDR3 - SGGYLGY(SEQ ID NO: 39), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0029] 서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 40); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 41); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 42), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0030] h) 서열: CDR1 - NYWIG(SEQ ID NO: 43); CDR2 - DIYPGGGYTNYNENFKG(SEQ ID NO: 44); 및 CDR3 - STTYYSSYWCFDV(SEQ ID NO: 45), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0031] 서열: CDR1 - KSSQSLLNSGNQANYLA(SEQ ID NO: 46); CDR2 - GASTRES(SEQ ID NO: 47); 및 CDR3 - QNDHSYPFT(SEQ ID NO: 48), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0032] i) 서열: CDR1 - RYWMS(SEQ ID NO: 49); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 50); 및 CDR3 - PGPTVVATYWYFDV(SEQ ID NO: 51), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0033] 서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGNTYLE(SEQ ID NO: 52); CDR2 - KVSSRFS(SEQ ID NO: 53); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 54), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0034] j) 서열: CDR1 - RYWIN(SEQ ID NO: 55); CDR2 - DIYPGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 56); 및 CDR3 - DTTIAY(SEQ ID NO: 57), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0035] 서열: CDR1 - RASQSVTTSRYSYMH(SEQ ID NO: 58); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 59); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 60), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0036] k) 서열: CDR1 - GYNMN(SEQ ID NO: 131); CDR2 - NIDPYYGGTNYNQKFKG(SEQ ID NO: 132); 및 CDR3 - GLLSGSFPY(SEQ ID NO: 133), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0037] 서열: CDR1 - RASENIYSYLA(SEQ ID NO: 134); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 135); 및 CDR3 - QHHYGSPLT(SEQ ID NO: 136), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0038] l) 서열: CDR1 - RSWMS(SEQ ID NO: 137); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 138); 및 CDR3 - FYDGYSIYWYFDV(SEQ ID NO: 139), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0039] 서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGDTYLE(SEQ ID NO: 140); CDR2 - KVSNRFS(SEQ ID NO: 141); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 142), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0040] m) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 143); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALRS(SEQ ID NO: 144); 및 CDR3 - IAVTYFFDF(SEQ ID NO: 145), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0041] 서열: CDR1 - RASENIFSSFA(SEQ ID NO: 146); CDR2 - NARTLAE(SEQ ID NO: 147); 및 CDR3 - QHHYASPFT(SEQ ID NO: 148), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0042] n) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 149); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 150); 및 CDR3 - MSTSYYFDY(SEQ ID NO: 151), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0043] 서열: CDR1 - KASQSLFTSVA(SEQ ID NO: 152); CDR2 - SASYRYT(SEQ ID NO: 153); 및 CDR3 - QQHYSSPFT(SEQ ID NO: 154), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0044] o) 서열: CDR1 - IYAMN(SEQ ID NO: 155); CDR2 - RIRSKSNNYARFYADSVKD(SEQ ID NO: 156); 및 CDR3 - PLRSYFSMDY(SEQ ID NO: 157), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는

상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0045] 서열: CDR1 - KASENVDTYVS(SEQ ID NO: 158); CDR2 - GASNRYT(SEQ ID NO: 159); 및 CDR3 - GQTYSYPWT(SEQ ID NO: 160), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).

[0046] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 다음을 포함한다:

[0047] a) SEQ ID NO: 61의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 62 또는 108의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0048] b) SEQ ID NO: 63의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 64 또는 109의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0049] c) SEQ ID NO: 65의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 66의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0050] d) SEQ ID NO: 68의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 69의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0051] e) SEQ ID NO: 71의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 72의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0052] f) SEQ ID NO: 74의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 75의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0053] g) SEQ ID NO: 76의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 77의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0054] h) SEQ ID NO: 78의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 79의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0055] i) SEQ ID NO: 80의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 81의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0056] j) SEQ ID NO: 82의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 83의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0057] k) SEQ ID NO: 161의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 162의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0058] l) SEQ ID NO: 163의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 164의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0059] m) SEQ ID NO: 165의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 166의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0060] n) SEQ ID NO: 167의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 168의 서열을 갖는 VL 도메인; 또는

[0061] o) SEQ ID NO: 169의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 170의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0062] 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체.

[0063] 적합하게는, 항원-결합 도메인은 CD84-결합 도메인이다.

[0064] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 scFv이다.

[0065] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항원-결합 도메인을 포함하는 항체를 제공한다.

[0066] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항원-결합 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0067] 적합하게는, 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체 또는 CAR은 CD84에 결합한다.

[0068] 일부 구체예에서, CAR은 scFv CAR이다.

[0069] 일부 구체예에서, CAR은 CD8a 또는 CD28 막횡단 도메인을 포함한다. 바람직한 구체예에서, CAR은 CD8a 막횡단 도메인을 포함한다.

[0070] 항원-결합 도메인 및 막횡단 도메인은 스페이서에 의해 연결될 수 있다. 일부 구체예에서, 스페이서는 CD8a 힌지 또는 CD28 힌지를 포함한다. 바람직한 구체예에서, CAR은 CD8a 힌지를 포함한다.

[0071] CAR은 하나 이상, 예를 들어, 2개 또는 3개의 세포내 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 바람직한 구체예에서, CAR은 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함한다.

[0072] CAR은 하나 이상, 예를 들어, 2개 또는 3개의 공동-자극 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, CAR은 4-1BB 공동-자극 도메인, CD28 공동-자극 도메인, OX40 공동-자극 도메인 및 ICOS 공동-자극 도메인으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 공동-자극 도메인을 포함한다.

[0073] 바람직한 구체예에서, CAR은 4-1BB 공동-자극 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 CD28 공동-자극 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 OX40 공동-자극 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 ICOS 공동

-자극 도메인을 포함한다.

[0074] 바람직한 구체예에서, CAR은 4-1BB 공동-자극 도메인 및 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함한다.

[0075] 바람직한 구체예에서, CAR은 본 발명의 항원-결합 도메인, CD8a 막횡단 도메인, 4-1BB 공동-자극 도메인 및 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함한다.

[0076] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체 또는 CAR을 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

[0077] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0078] 일부 구체예에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 구체예에서, 벡터는 레트로바이러스 벡터 또는 렌티바이러스 벡터, 바람직하게는 렌티바이러스 벡터이다.

[0079] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함하는 세포를 제공한다.

[0080] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항원-결합 도메인 또는 CAR을 포함하는 세포를 제공한다.

[0081] 세포는 추가의 (제2) CAR을 포함할 수 있다.

[0082] 또 다른 양태에서, 본 발명은 제1 CAR 및 제2 CAR을 포함하는 세포를 제공하며, 여기서 제1 CAR은 본 발명의 CAR이다.

[0083] 또 다른 양태에서, 본 발명은 제1 세포 및 제2 세포를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 제1 세포는 제1 CAR을 포함하고, 제2 세포는 제2 CAR을 포함하고, 여기서 제1 CAR은 본 발명의 CAR이다.

[0084] 일부 구체예에서, 제1 CAR과 제2 CAR은 상이하다. 일부 구체예에서, 제1 CAR 및 제2 CAR은 상이한 항원에 결합한다.

[0085] 또 다른 양태에서, 본 발명은 탠덤 CAR을 포함하는 세포를 제공하며, 여기서 탠덤 CAR은 제1 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv) 및 제2 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)을 포함하고, 여기서 제1 항원-결합 도메인(예를 들어, 예를 들어, scFv)는 본 발명의 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)이다.

[0086] 일부 구체예에서, 제1 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv) 및 제2 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)은 상이하다. 일부 구체예에서, 제1 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv) 및 제2 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)은 상이한 항원에 결합한다.

[0087] 일부 구체예에서, 제2 CAR은 항-CD19 CAR, 항-CD20 CAR 또는 항-CD22 CAR(예를 들어, B-세포 악성종양 치료용); 항-CD33 CAR 또는 항-CD123 CAR(예를 들어, AML 치료용); 또는 항-CD7 CAR(예를 들어, T-ALL 치료용)이다.

[0088] 일부 구체예에서, 제2 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)은 항-CD19 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv), 항-CD20 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv) 또는 항-CD22 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)(예를 들어, B-세포 악성종양 치료용); 항-CD33 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv) 또는 항-CD123 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)(예를 들어, AML 치료용); 또는 항-CD7 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)(예를 들어, T-ALL 치료용)이다.

[0089] 일부 구체예에서, 세포는 T 세포 또는 NK 세포, 바람직하게는 T 세포이다. 일부 구체예에서, T 세포는 자가 또는 동종이계 T 세포이다. 일부 구체예에서, NK 세포는 자가 또는 동종이계 NK 세포이다.

[0090] NK 세포는, 예를 들어, 임의의 적합한 조직 샘플, 세포주 또는 줄기 세포 공급원으로부터 공급될 수 있다. 일부 구체예에서, NK 세포(바람직하게는 동종이계 NK 세포)는 제대혈(CB), 유도 다능성 줄기 세포(iPSC), 골수(BM), 인간 배아 줄기 세포(hESC), 세포주(예를 들어, NK92 또는 YT), 또는 말초 혈액(PB)(예를 들어, 자가 또는 동종이계)로부터 유래된다. 바람직하게는, NK 세포는 CB로부터 유래된다.

[0091] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터 또는 세포를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0092] 또 다른 양태에서, 본 발명은 요법에서 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0093] 일부 구체예에서, 요법은 암의 치료이다.

[0094] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 질병을 치료하는 방법을 제공한다.

[0095] 일부 구체예에서, 질병은 암이다.

[0096] 또 다른 양태에서, 본 발명은 의약의 제조를 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물의 용도를 제공한다.

[0097] 일부 구체예에서, 의약은 질병, 바람직하게는 암을 치료하기 위한 것이다.

[0098] 바람직한 구체예에서, 암은 혈액 악성종양이다.

[0099] 바람직한 구체예에서, 암 세포는 CD84를 발현하고, 예를 들어, 혈액 악성종양은 CD84-발현 혈액 악성종양일 수 있다.

[0100] 일부 구체예에서, 암은 만성 림프구성 백혈병(CLL), B-세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 버킷 림프종, 소포 림프종, 외투 세포 림프종, B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군, T-세포 급성 림프모구성 백혈병/림프종(T-ALL), 만성 골수증식성 증후군, 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수단구성 백혈병, 수지상-세포 신생물 및 조직구 육종으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0101] 일부 구체예에서, 암은 만성 림프구성 백혈병(CLL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 버킷 림프종, 소포 림프종, 외투 세포 림프종, B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL), T-세포 급성 림프모구성 백혈병/림프종(T-ALL), 급성 골수성 백혈병(AML) 및 조직구 육종으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0102] 바람직한 구체예에서, 암은 CLL, B-세포 림프종, B-ALL, T-ALL 및 AML로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0103] 또 다른 양태에서, 본 발명은 AML을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0104] 또 다른 양태에서, 본 발명은 T-ALL을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0105] 또 다른 양태에서, 본 발명은 B-세포 림프종을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0106] 또 다른 양태에서, 본 발명은 버킷 림프종을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0107] 또 다른 양태에서, 본 발명은 샘플에서 CD84 발현 수준을 결정하기 위한, 선택적으로 대상체로부터의 샘플에서 CD84 발현 수준을 분석하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인 또는 항체의 용도를 제공한다.

[0108] 또 다른 양태에서, 본 발명은 항-CD84 CAR 또는 항체로 치료하기에 적합한 대상체를 확인하는 방법을 제공하며, 여기서 방법은 대상체로부터 분리된 샘플에서 CD84 발현 수준을 결정하는 단계를 포함하고, 여기서 CD84 발현 수준은 본 발명의 항원-결합 도메인 또는 항체를 사용하여 결정된다.

[0109] 일부 구체예에서, 샘플은 혈액 샘플이다.

도면의 간단한 설명

[0110] **도면의 설명**

도 1. 모든 종양 샘플 및 쌍을 이룬 정상 조직에 걸쳐 CD84(별칭 LY9B, SLAMF5, hCD84, mCD84) 유전자 발현 프로파일을 나타내는 막대 플롯. 막대의 높이는 특정 종양 유형 또는 정상 조직의 중간 발현을 나타낸다. 출처 Http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php?gene=CD84.

도 2. 상이한 종양 유형으로부터 수득된 세포주에서 RNA 시퀀싱(상부) 또는 Affymetrix 마이크로어레이(하부)에 의해 측정된 CD84 mRNA 발현의 박스 및 위스커(10-90 백분위수) 표현. 출처 Https://portals.broadinstitute.org/ccle. 도면은 가장 높은 CD84 발현을 갖는 20개의 종양 유형만을 보여준다.

도 3. 상이한 세포주에서 CD84의 발현. 밝은 회색의 히스토그램은 아이소형-매칭된 대조군 항체로의 염색을 나타내고, 어두운 회색의 히스토그램은 특정 CD84 항체로의 염색을 나타낸다.

도 4. 유세포 분석에 의해 평가된 만성 림프구성 백혈병으로 진단된 환자로부터의 9개 샘플에서 CD84의 발현. 밝은 회색의 히스토그램은 아이소형-매칭된 대조군 항체로의 염색을 나타내고, 어두운 회색의 히스토그램은 특정 CD84 항체로의 염색을 나타낸다.

도 5. 급성 골수성 백혈병으로 진단된 환자로부터의 10개 샘플에서 CD84의 발현을 유세포 분석에 의해 평가하였다. CD84의 중등도 발현(환자 P04)에 대한 하나의 대표적인 예와 CD84의 고발현(환자 P10)에 대한 하나의 대표적인 예가 도시되어 있다. 밝은 회색의 히스토그램은 아이소형-매칭된 대조군 항체로의 염색을 나타내고, 어두운 회색의 히스토그램은 특정 CD84 항체로의 염색을 나타낸다.

도 6. CD84 CAR 서열이 삽입된 위치를 보여주는 pCCL-EF1α_CAR84 플라스미드 벡터의 맵(상부). 항-CD84 2세대 CAR 작제물의 도식(하부).

도 7. 24시간 인큐베이션 후, 2:1의 이펙터:표적 비의 Ramos 세포와의 공동-배양물에서 CD84-표적화 CAR-T 세포에 의한 IFN-γ 분비. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 Kruskal-Wallis로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교). 4회 실험의 평균 ± SEM이 제시된다. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

도 8. 24시간 인큐베이션 후, 2:1의 이펙터:표적 비의 Ramos 세포와의 공동-배양물에서 CD84-표적화 CART 세포에 의한 IL-2 분비. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 Kruskal-Wallis로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교). 4회 실험의 평균 ± SEM이 제시된다. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

도 9. 24시간 인큐베이션 후, 2:1의 이펙터:표적 비의 Ramos 세포와의 공동-배양물에서 CD84-표적화 CART 세포에 의한 그랜자임 B 분비. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 Kruskal-Wallis로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교). 4회 실험의 평균 ± SEM이 제시된다. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

도 10. 24시간 인큐베이션 후, 2:1의 이펙터:표적 비의 Ramos 세포와의 공동-배양물에서 CD84-표적화 CART 세포에 의한 TNF-α 분비. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 Kruskal-Wallis로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교). 4회 실험의 평균 ± SEM이 제시된다. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

도 11. 2:1의 이펙터:표적 비에서 24시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. Ramos-GFP^+ 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 8회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 통상적인 일원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): ** $p < 0.001$, * $p < 0.01$.

도 12. 2:1의 이펙터:표적 비에서 24시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. K562-GFP^+ 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 8회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 통상적인 일원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): ** $p < 0.001$, * $p < 0.01$.

도 13. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. Ramos-GFP^+ 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 5회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 통상적인 일원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$.

도 14. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. K562-GFP^+ 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 5회 독립적 실험의 평균 ± SEM. 통계적 유의성은 통상적인 일원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, n.s.: 유의하지 않음.

도 15. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. MOLM-13-GFP^+ 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 3회 독립적 실험의 평균 ± SEM, UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 통상적인 일원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

도 16. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. NALM6-GFP^{+} 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 3회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 통상적인 일원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 17. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. MOLT4-GFP^{+} 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 4회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 통상적인 일원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): ** p < 0.01, * p < 0.05, ns: 유의하지 않음.

도 18. 유세포 분석에 의해 평가된 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에서의 CD84 발현. 밝은 회색의 히스토그램은 아이소형-매칭된 대조군 항체로의 염색을 나타내고, 어두운 회색의 히스토그램은 특정 CD84 항체로의 염색을 나타낸다. PBMC를 CD4, CD8, CD19, 및 CD14에 대한 특이적 항체로 염색하였다.

도 19. 16시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. CFSE^{+} 및 Ramos-GFP^{+} 세포로 표지된 PBMC의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 3명의 상이한 공여자로부터의 3회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 페어드 T 테스트로 결정되었다(UT와 비교하여): ** p < 0.01, ns = 유의하지 않음.

도 20. CD84 항원의 SDS PAGE 겔 이미지. Coomassie blue 염색으로 환원된 SDS PAGE.

도 21. T-ALL로 진단된 2명의 환자(P01 및 P02)의 말초 혈액으로부터의 백혈병 세포에 대한 유세포 분석에 의해 평가된 CD84 발현. 히스토그램은 CD34에 대해 게이팅된 모세포에서 CD84 발현을 나타내고; 밝은 회색의 히스토그램은 아이소형-매칭된 대조군 항체로의 염색을 나타내고, 어두운 회색의 히스토그램은 특정 CD84 항체로의 염색을 나타낸다.

도 22. 형질도입 6-7일 후에 CAR T 세포의 확장은 배양 0일에 T 세포의 수에 비해 증가 배수로 표시된다. 도면은 각각 상이한 건강한 공여자로부터의 세포를 사용하는 5 내지 12개의 독립적인 확장을 나타낸다. UT: 형질도입되지 않은 T 세포.

도 23. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. Ramos-GFPffLuc 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 5회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA 테스트로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 24. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. MOLM-13 GFPffLuc 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 적어도 5회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA 테스트로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 25. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. U937 GFPffLuc 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 적어도 3회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA 테스트로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 26. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. MOLT-4 GFPffLuc 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 적어도 5회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA 테스트로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 27. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. CFSE로 염색된 일차 AML 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA 테스트

로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 28. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간 및 48시간의 인큐베이션 기간 후 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. CFSE로 염색된 일차 T-ALL 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA 테스트로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 29. 24시간 인큐베이션 후, 2:1의 이펙터:표적 비의 지시된 바와 같은 Ramos, MOLM-13 또는 MOLT-4 세포와의 공동-배양물에서 CD84-표적화 CAR-T 세포에 의한 IFN-γ 분비. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계 분석은 다중 비교를 위해(vs. UT) 구형성을 가정한 이원 ANOVA 혼합 효과 분석 및 Dunnet 사후 테스트를 통해 결정되었다(vs. UT). 적어도 3회 실험의 평균 ± SD가 제시된다. *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 30. 24시간 인큐베이션 후, 2:1의 이펙터:표적 비의 지시된 바와 같은 Ramos, MOLM-13 또는 MOLT-4 세포와의 공동-배양물에서 CD84-표적화 CAR-T 세포에 의한 그랜자임 B 분비. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계 분석은 다중 비교를 위해(vs. UT) 구형성을 가정한 이원 ANOVA 혼합 효과 분석 및 Dunnet 사후 테스트를 통해 결정되었다. 적어도 3회 실험의 평균 ± SD가 제시된다. *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 31. 24시간 인큐베이션 후, 2:1의 이펙터:표적 비의 지시된 바와 같은 Ramos, MOLM-13 또는 MOLT-4 세포와의 공동-배양물에서 CD84-표적화 CAR-T 세포에 의한 TNF-α 분비. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계 분석은 다중 비교를 위해(vs. UT) 구형성을 가정한 이원 ANOVA 혼합 효과 분석 및 다중 비교를 위한 Dunnet 사후 테스트를 통해 결정되었다. 적어도 3회 실험의 평균 ± SD가 제시된다. *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

도 32. 4일 시점에 CFSE 검정에 의해 측정된 시험관내 CART-세포 증식(유세포 분석 이미지). 0일, 배지만으로 4일 후(대조군), IL-2로 자극될 때 또는 MOLM-13 AML 세포의 존재 하에 증식. UT: 형질도입되지 않은 T 세포.

도 33. 동종이계 줄기 세포 이식을 위한 건강한 공여자의 성분채집술 생성물로부터 분리된 $CD34^+$ HPSC에 대한 유세포 분석에 의해 평가된 CD84, CD33 및 CD123 발현. 밝은 회색의 히스토그램은 아이소형-매칭된 대조군 항체로의 염색을 나타내고, 어두운 회색의 히스토그램은 특정 항체로의 염색을 나타낸다.

도 34. 이펙터:표적(E:T) 세포 비 4:1 및 2:1에서 24시간의 인큐베이션 기간 후 5개의 상이한 제대혈 유닛으로부터 분리된 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. $CD34^+$ HPSC의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 5회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

도 35. 이펙터:표적(E:T) 세포 비 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1에서 24시간의 인큐베이션 기간 후, 동종이계 줄기 세포 이식을 위한 건강한 공여자의 성분채집술 생성물로부터 분리된 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. $CD34^+$ HPSC의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 세포의 백분율이 제시된다. 3회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

도 36. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적(E:T) 세포 비에서 24시간의 인큐베이션 기간 후 동일한 공여자로부터 분리된 상이한 CD84-표적화 CART 세포 vs. $CD3^+$ T 세포의 세포독성 검정. 미처리 세포(표적 세포 단독)에 대한 표적 생존 T 세포의 백분율이 제시된다. 5회 독립적 실험의 평균 ± SEM. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. 통계적 유의성은 이원 ANOVA로 결정되었다(UT에 대한 다중 비교): *** p < 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

도 37. 상이한 CART84와 공동-배양 전에 표적 T 세포에 대한 그리고 공동-배양 후에 생존 표적 T 세포에 대한 상이한 T-세포 서브세트의 유세포 분석에 의한 분석. 하기 T-세포 서브세트가 연구되었다: CD45RA+/CD62L+ 나이브(백색), CD45RA-/CD62L+ 중심-기억(진한 회색), CD45RA-/CD62L- 이펙터-메모리(검은색), 및 CD45RA+/CD62L- 이펙터 T 세포(밝은 회색).

도 38. 생체내 MOLM-13 세포에 대한 CART84 세포의 효능. MOLM-13 질병 진행을 생물발광에 의해 매주 모니터링하였다. 생물발광 정량화(A) 및 동물 생존(B). 생물발광 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 이원 ANOVA 모델로 수행되었다. 생존의 통계적 유의성은 3회 비교에 대해 수정된 p 값을 갖는 Log-Rank 테스트로 결정되었다.

도 39. 생체내 MOLM-13 세포에 대한 CART84 세포의 효능. MOLM-13 질병 진행을 생물발광에 의해 매주 모니터링

하였다. 생물발광 정량화(A) 및 동물 생존(B). 실험 종료시 마우스의 골수(상부) 및 비장(하부)에서 유세포 분석에 의해 평가된 MOLM-13 GFP-ffLuc 세포(C), $CD3^+$ T 세포(D) 및 CART 세포(E)의 총 수. 생물발광 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 이원 ANOVA 모델로 수행되었다. 생존의 통계적 유의성은 3회 비교에 대해 수정된 p 값을 갖는 Log-Rank 테스트로 결정되었다. MOLM-13 및 $CD3^+$ T 세포 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 일원 ANOVA 모델로 수행되었고; CART 세포 정량화의 분석은 Tukey의 다중 비교에 의한 일원 ANOVA 모델로 수행되었다.

도 40. 생체내 MOLM-13 세포에 대한 CD84 CART 세포의 효능. MOLM-13 질병 진행을 생물발광에 의해 매주 추적하였다. 생물발광 정량화(A) 및 동물 생존(B). 실험 종료시 마우스의 골수(상부) 및 비장(하부)에서 유세포 분석에 의해 평가된 MOLM-13 GFP-ffLuc 세포(C), $CD3^+$ T 세포(D) 및 CART 세포(E)의 총 수. 생물발광 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 이원 ANOVA 모델로 수행되었다. 생존의 통계적 유의성은 3회 비교에 대해 수정된 p 값을 갖는 Log-Rank 테스트로 결정되었다. MOLM-13 및 $CD3^+$ 세포 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 일원 ANOVA 모델로 수행되었고; CART 세포 정량화의 분석은 Tukey의 다중 비교에 의한 일원 ANOVA 모델로 수행되었다.

도 41. 생체내 MOLT-4 세포에 대한 CD84 CART 세포의 효능. MOLT-4 질병 진행을 생물발광에 의해 매주 모니터링하였다. 생물발광 정량화(A) 및 동물 생존(B). 생물발광 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 이원 ANOVA 모델로 수행되었다. 생존의 통계적 유의성은 3회 비교에 대해 수정된 p 값을 갖는 Log-Rank 테스트로 결정되었다.

도 42. 생체내 MOLT-4 세포에 대한 CD84 CART 세포의 효능. MOLT-4 질병 진행을 생물발광에 의해 매주 모니터링하였다. 생물발광 정량화(A) 및 동물 생존(B). 실험 종료시 마우스의 골수(상부) 및 비장(하부)에서 유세포 분석에 의해 검출된 MOLT-4 GFP-ffLuc 세포(C), $CD3^+$ T 세포(D) 및 CART 세포(E)의 총 수. 생물발광 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 이원 ANOVA 모델로 수행되었다. 생존의 통계적 유의성은 3회 비교에 대해 수정된 p 값을 갖는 Log-Rank 테스트로 결정되었다. MOLT-4 및 $CD3^+$ 세포 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 일원 ANOVA 모델로 수행되었고; CART 세포 정량화의 분석은 Tukey의 다중 비교에 의한 일원 ANOVA 모델로 수행되었다.

도 43. 유세포 분석에 의해 평가된 인간 일차 세포에서의 CD84 발현. 밝은 회색의 히스토그램은 아이소형-매칭된 대조군 항체로의 염색을 나타내고, 어두운 회색의 히스토그램은 특정 CD84 항체로의 염색을 나타낸다.

도 44. XCELLigence 기기를 사용하여 세포 배양물에 CART/UT 첨가(화살표) 후 72시간 동안 측정된 CART84 세포 152.3, 153.5 및 UT vs. 인간 일차 세포의 세포독성 검정. UT: 형질도입되지 않은 T 세포.

도 45. 생체내 Ramos 세포에 대한 CD84 CART 세포의 효능. (A) Ramos 질병 진행을 생물발광에 의해 매주 모니터링하였다. 생물발광 정량화의 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 이원 ANOVA 모델로 수행되었다. (B) 종료시 마우스의 골수에서 유세포 분석에 의해 평가된 Ramos GFP-ffLuc 세포의 총 수. 통계 분석은 Dunnett의 다중 비교 vs. UT-처리된 마우스를 이용한 일원 ANOVA 모델로 수행되었다. UT: 형질도입되지 않은 T 세포. * $p < 0.05$.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0111] **발명의 상세한 설명**

[0112] 본원에서 사용되는 용어 "포함하는", "포함하다" 및 "이루어지는"은 "포함하는" 또는 "포함하다"; 또는 "함유하는" 또는 "함유하다"와 동의어이고, 포괄적이거나 개방형이며, 언급되지 않은 추가 구성원, 요소 또는 단계를 배제하지 않는다. 용어 "포함하는", "포함하다" 및 "이루어지는"은 또한 용어 "구성되는"을 포함한다.

[0113] **CD84**

[0114] CD84(LY9B 및 SLAMF5로도 공지됨)는 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM) 패밀리의 구성원인 막 당단백질이며, 이는 그 자체가 Ig 슈퍼패밀리의 더 큰 CD2 세포-표면 수용체 서브그룹의 서브세트이다.

[0115] CD84 수용체의 세포외 부분은 SLAM 패밀리의 모든 구성원에 공통적인 구조인 비정규 IgV 원위 도메인 및 IgC2g 근위 도메인을 함유한다. CD84는 호모필릭 접착 분자로서 기능하고 수많은 면역 세포 유형에서 발현된다. 수용

체:리간드 상호작용은 IgV 도메인을 포함하고 사이토플라스틱 도메인과 무관하다. SLAM 패밀리의 다른 분자에 대한 CD84의 결합을 방지하는 호포필릭 계면에는 특정한 차이가 존재한다.

[0116] 본 발명자들은 CD84가 버킷 림프종, 급성 골수성 백혈병(AML), 만성 골수성 백혈병(CML), B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL), T-세포 급성 림프모구성 백혈병(T-ALL) 및 조직구 림프종을 포함하는 악성 혈액 질환으로부터 유래된 다양한 세포주에서 과발현된다는 것을 확인하였다.

[0117] 연구에 따르면 CD84는 만성 림프구성 백혈병(CLL)에서 과발현된다.

[0118] CD84의 예시적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

MAQHHLWILLLCLQTWPEAAGKDSEIFTVNGILGESVTFPVNIQEPRQVKIIAWTSKTSVAYVTPGDSE
TAPVVTVTHRNYYERIHALGPNYNLVISDLRMEDAGDYKADINTQADPYTTTKRYNLQIYRRLGKPKIT
QSLMASVNSTCNVTLTCSVEKEEKNVTYNWSPLGEEGNVLQIFQTPEDQELTYTCTAQNPVSNNSDSIS
ARQLCADIAMGFRTHHTGLLSVLAMFFLLVLILSSVFLFRLFKRRQGRIFPEGSCLNTFTKNPYAASKK
TIYTYIMASRNTQPAESRIYDEILQSKVLPSKEEPVNTVYSEVQFADKMGKASTQDSKPPGTSSYEIVI

[0119] (SEQ ID NO: 126)

[0120] **항원-결합 도메인**

[0121] 항원-결합 도메인은 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 갖는 단백질 또는 펩티드일 수 있다. 항원-결합 도메인은 관심 항원에 대한 임의의 천연 발생, 합성, 반합성 또는 재조합적으로 생산된 결합 파트너를 포함한다.

[0122] 예시적인 항원-결합 도메인은 항체 또는 항체 단편 또는 유도체, 수용체의 세포외 도메인(예를 들어, TCR), 세포 표면 분자/수용체에 대한 리간드, 또는 이의 수용체 결합 도메인을 포함한다.

[0123] 바람직한 구체예에서, 항원-결합 도메인은 항체이거나 항체로부터 유래된다. 항체-유래 도메인은 항체의 단편 또는 항체의 하나 이상의 단편의 유전적으로 조작된 생성물일 수 있으며, 이 단편은 항원과의 결합에 관여한다. 예로는 가변 영역(Fv), 상보성 결정 영역(CDR), Fab, 단일 사슬 가변 단편(scFv), 중쇄 가변 영역(VH), 경쇄 가변 영역(VL) 및 카멜리드 항체(VHH)를 포함한다.

[0124] 항원-결합 도메인은 비인간(예를 들어, 뮤린), 키메라, 인간화 또는 완전한 인간일 수 있다.

[0125] 바람직한 구체예에서, 항원-결합 도메인은 단일 사슬 가변 단편(scFv)이다. scFv는, 예를 들어, 뮤린, 인간 또는 인간화된 scFv일 수 있다.

[0126] 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 관련하여 용어 "상보성 결정 영역"(CDR)은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 가변 영역에서 고도로 가변적인 루프를 지칭한다. CDR은 항원 입체형태와 상호작용할 수 있고, (일부 프레임워크 영역이 결합에 관여하는 것으로 알려져 있으나) 항원에 대한 결합을 주로 결정할 수 있다. 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 각각 3개의 CDR을 함유한다.

[0127] "중쇄 가변 영역"(VH)은 CDR보다 더욱 고도로 보존되고 CDR을 지지하는 스캐폴드를 형성하는 프레임워크 영역으로 공지된 측접 스트레치 사이에 개재된 3개의 CDR을 함유하는 항체의 중쇄의 가변 단편을 지칭한다.

[0128] "경쇄 가변 영역"(VL)은 프레임워크 영역 사이에 개재된 3개의 CDR을 함유하는 항체의 경쇄의 가변 단편을 지칭한다.

[0129] "Fv"는 완전한 항원-결합 부위를 보유하는 항체의 가장 작은 단편을 지칭한다. Fv는 단일 중쇄의 가변 영역에 결합된 단일 경쇄의 가변 영역으로 구성된다.

[0130] "단일 사슬 가변 단편"(scFv)은 서로 직접적으로 연결되거나 펩티드 링커 서열을 통해 연결된 경쇄 가변 영역(VL) 및 중쇄 가변 영역(VH)으로 구성된 조작된 항체를 지칭한다.

[0131] 항원-결합 도메인은 항원에 특이적으로 결합할 수 있고, 예를 들어, 항원에는 결합하지만 다른 펩티드에는 결합하지 않거나, 다른 펩티드에 더 낮은 친화도로 결합할 수 있다.

[0132] 2개의 분자(예를 들어, 항원-결합 도메인 및 항원) 사이의 결합 친화도는, 예를 들어, 해리 상수(K_D)의 결정에 의해 정량화될 수 있다. K_D는, 예를 들어, 표면 플라즈몬 공명(SPR)과 같은 기술을 사용하여, 항원-결합 도메인과 항원 사이의 복합체 형성 및 해리의 동역학을 측정함으로써 결정될 수 있다. 복합체의 결합 및 해리에 상응하는 속도 상수는 각각 결합 속도 상수 k_a(또는 k_{on}) 및 해리 속도 상수 k_d(또는 k_{off})로 지칭된다. K_D는 방정식

$K_D = k_d / k_a$를 통해 k_a 및 k_d와 관련이 있다.

[0133] 적합하게는, 항원-결합 도메인은 CD84-결합 도메인이다.

SEQ ID NO.	설명	서열
1	152-1D5 CDR-H1	NYWIN
2	152-1D5 CDR-H2	DIYPVSGTTNYNEKFKR
3	152-1D5 CDR-H3	GTGRFAY
4	152-1D5 CDR-L1	RASQSVSTSSYSYMH
5	152-1D5 CDR-L2	FASNLES
6	152-1D5 CDR-L3	QHSWEIPYT
7	153-4D9 CDR-H1	NYWLG
8	153-4D9 CDR-H2	DIYPGGGYTNYIEKFKG
9	153-4D9 CDR-H3	YEGGYYGNYDAMDY
10	153-4D9 CDR-L1	RASESVDNYGISFMN
11	153-4D9 CDR-L2	AASNQGS
12	153-4D9 CDR-L3	QQSKAVPRT
13	R3-B3 CDR-H1	GFTFSSYA
14	R3-B3 CDR-H2	ISGSGGST
15	R3-B3 CDR-H3	AKWDCSDGRCYWAY
16	R3-B3 CDR-L1	NIESKD
17	R3-B3 CDR-L2	DDA
18	R3-B3 CDR-L3	QVWDSSSDHVV
19	R3-G7 CDR-H1	GFTFSSYP
20	R3-G7 CDR-H2	ISYHGRNK
21	R3-G7 CDR-H3	ARDRDATPGGTGVGNHGMAV
22	R3-G7 CDR-L1	QSLLHSSGYNY
23	R3-G7 CDR-L2	MGS
24	R3-G7 CDR-L3	MQGLQTPPT
25	R3-H3	GFTFSDNA

[0134]

	CDR-H1	
26	R3-H3 CDR-H2	ISGTGRTT
27	R3-H3 CDR-H3	AKWDCSDGRCYWAY
28	R3-H3 CDR-L1	QSLVYSDGDTY
29	R3-H3 CDR-L2	KVS
30	R3-H3 CDR-L3	MQGTHWPPNT
31	GYCD84.1-7 CDR-H1	TSGMGVG
32	GYCD84.1-7 CDR-H2	HIWWDDVKRYNPALKS
33	GYCD84.1-7 CDR-H3	MRTSYYFDY
34	GYCD84.1-7 CDR-L1	RASENIFSSLA
35	GYCD84.1-7 CDR-L2	NAKTLAE
36	GYCD84.1-7 CDR-L3	QHHYATPFT
37	GYCD84.1-97 CDR-H1	SYWIN
38	GYCD84.1-97 CDR-H2	DIYLGSGSTNYNEKFKS
39	GYCD84.1-97 CDR-H3	SGGYLGY
40	GYCD84.1-97 CDR-L1	RASQSVSTSSYSYMH
41	GYCD84.1-97 CDR-L2	FASNLES
42	GYCD84.1-97 CDR-L3	QHSWEIPYT
43	GYCD84.1-108 CDR-H1	NYWIG
44	GYCD84.1-108 CDR-H2	DIYPGGGYTNYNENFKG
45	GYCD84.1-108 CDR-H3	STTYYSSYWCFDV
46	GYCD84.1-108 CDR-L1	KSSQSLLNSGNQANYLA
47	GYCD84.1-108 CDR-L2	GASTRES
48	GYCD84.1-108 CDR-L3	QNDHSYPFT
49	GYCD84.1-207 CDR-H1	RYWMS
50	GYCD84.1-207 CDR-H2	EINPDSSTINYTPSLKD

[0135]

51	GYCD84.1-207 CDR-H3	PGPTVVATYWYFDV
52	GYCD84.1-207 CDR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLE
53	GYCD84.1-207 CDR-L2	KVSSRFS
54	GYCD84.1-207 CDR-L3	FQGSHVPRT
55	GYCD84.1-226 CDR-H1	RYWIN
56	GYCD84.1-226 CDR-H2	DIYPGSGSTNYNEKFKS
57	GYCD84.1-226 CDR-H3	DTTIAY
58	GYCD84.1-226 CDR-L1	RASQSVTTSRYSYMH
59	GYCD84.1-226 CDR-L2	FASNLES
60	GYCD84.1-226 CDR-L3	QHSWEIPYT
61	152-1D5 VH	QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLSCKASGYNFTNYWINWVKLRPGQGLEWIGDIYPVSGTTNYNEKFKRKATLTVDTSSSTGNMQLSSLASEDSALYYCASGTGRFAYWGQGTLVTVSA
62	152-1D5 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK
63	153-4D9 VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYIEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARYEGGYYGNYDAMDYWGQGTSVTVSS
64	153-4D9 VL	DIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKAVPRTFGGGTKLEIK
65	R3-B3 VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWDCSDGRCYWAYWGQGTLVTVSS
66	R3-B3 VL	QPVLTQPPSVSVAPGQTARISCGGDNIESKDVHWYQRKSGQAPVLVVHDDADRPTGIPDRFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTQLTVL
67	R3-B3 링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGAS
68	R3-G7 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYPMHWVRQAPGKGLEWVAAISYHGRNKFYADSVKGRFTISRDDLRSTLYLQMNNLKADDTAVYSCARDRDATPGGTGVGNHGMAVWGQGTTVTVSS
69	R3-G7 VL	EIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLLHSSGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIHMGSNRASGVPARFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCMQGLQTPPTFGGGTKLEIK
70	R3-G7 링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGAS

[0136]

71	R3-H3 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGTGRTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWD CSDGRCYWAYWGQGTLVTVSS
72	R3-H3 VL	EIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGDTYLNWFQQRPGQSPR RLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP PNTFGQGTRLEIK
73	R3-H3 링커	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGAS
74	GYCD84.1-7 VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVGWIRQPSGKGLEWL AHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSSSQVFLKIASVDTADTATYYCARM RTSYYFDYWGQGTTLTVSS
75	GYCD84.1-7 VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIFSSLAWYQQRQGKSPQLLVYN AKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYCQHHYATPFTFGS GTKLEIK
76	GYCD84.1-97 VH	QVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYNFTSYWINWVKLRPGQGLEWIGD IYLGSGSTNYNEKFKSKATLTVDTSSSSAYMQLSSLVSEDSALYYCATSG GYLGYWGQGTTLTVSS
77	GYCD84.1-97 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPY TFGGGTKLEIK
78	GYCD84.1-108 VH	QVQLQQSGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTFTNYWIGWVRQRPGHGLEWIGD IYPGGGYTNYNENFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCARST TYYSSYWCFDVWGPGTTVTVSS
79	GYCD84.1-108 VL	DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQANYLAWYQQKPGQPP KLLINGASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSY PFTFGSGTKLEIK
80	GYCD84.1-207 VH	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGE INPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARPG PTVVATYWYFDVWGAGTTVTVSS
81	GYCD84.1-207 VL	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPK LLIYKVSSRFSGVPDRFSGSASGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVP RTFGGGTKLEIK
82	GYCD84.1-226 VH	QVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYNFTRYWINWVKLRPGQGLEWIGD IYPGSGSTNYNEKFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSRLASEDSALYYCARDT TIAYWGQGTLVTVSA
83	GYCD84.1-226 VL	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASQSVTTSRYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPY TFGGGTKLEIK
131	GYCD84.2.32 CDR-H1	GYNMN
132	GYCD84.2.32 CDR-H2	NIDPYYGGTNYNQKFKG
133	GYCD84.2.32 CDR-H3	GLLSGSFPY
134	GYCD84.2.32 CDR-L1	RASENIYSYLA
135	GYCD84.2.32 CDR-L2	NAKTLAE
136	GYCD84.2.32 CDR-L3	QHHYGSPLT
137	GYCD84.3.89 CDR-H1	RSWMS
138	GYCD84.3.89 CDR-H2	EINPDSSTINYTPSLKD
139	GYCD84.3.89 CDR-H3	FYDGYSIYWYFDV
140	GYCD84.3.89 CDR-L1	RSSQSIVHSNGDTYLE

[0137]

141	GYCD84.3.89 CDR-L2	KVSNRFS
142	GYCD84.3.89 CDR-L3	FQGSHVPRT
143	GYCD84.3.298 CDR-H1	TSGMGVG
144	GYCD84.3.298 CDR-H2	HIWWDDVKRYNPALRS
145	GYCD84.3.298 CDR-H3	IAVTYFFDF
146	GYCD84.3.298 CDR-L1	RASENIFSSFA
147	GYCD84.3.298 CDR-L2	NARTLAE
148	GYCD84.3.298 CDR-L3	QHHYASPFT
149	GYCD84.2.27 CDR-H1	TSGMGVG
150	GYCD84.2.27 CDR-H2	HIWWDDVKRYNPALKS
151	GYCD84.2.27 CDR-H3	MSTSYYFDY
152	GYCD84.2.27 CDR-L1	KASQSLFTSVA
153	GYCD84.2.27 CDR-L2	SASYRYT
154	GYCD84.2.27 CDR-L3	QQHYSSPFT
155	GYCD84.5.171 CDR-H1	IYAMN
156	GYCD84.5.171 CDR-H2	RIRSKSNNYARFYADSVKD
157	GYCD84.5.171 CDR-H3	PLRSYFSMDY
158	GYCD84.5.171 CDR-L1	KASENVDTYVS
159	GYCD84.5.171 CDR-L2	GASNRYT
160	GYCD84.5.171 CDR-L3	GQTYSYPWT
161	GYCD84.2.32 VH	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMNWVKQSNGKSLEWIGN IDPYYGGTNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARGL LSGSFPYWGQGTLVTVSA
162	GYCD84.2.32 VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQGKSPQLLVYN AKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLHPEDFGSYFCQHHYGSPLTFGA GTKLEVK
163	GYCD84.3.89 VH	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFGFSRSWMSWVRQAPGKGLEWIGE INPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLFLQMSKVRSEDTALYYCATFY DGYSIYWYFDVWGAGTTVTVSS
164	GYCD84.3.89 VL	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGDTYLEWYLQKPGQSPK LLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVP RTFGGGTKLEIK
165	GYCD84.3.298 VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVGWIRQPSGKGLEWL AHIWWDDVKRYNPALRSRLTISKDTSSSQVFLNIASVDTADTATYYCTRI AVTYFFDFWGQGTTLTVSS
166	GYCD84.3.298 VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIFSSFAWYQQKRGRSPQLLVYN ARTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGTYFCQHHYASPFTFGS GTELGVK

[0138]

167	GYCD84.2.27 VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLTTSGMGVGWIRQPSGKGLEWL AHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSSSQVFLKIASVDTADTASYYCARM STSYYFDYWGQGTTLTVSS
168	GYCD84.2.27 VL	DIVMTQSHKFMSTSLGDRVSISCKASQSLFTSVAWYQQKPGQSPKLLIYS ASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSSPFTFGS GTKLGIK
169	GYCD84.5.171 VH	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLACAASGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVAR IRSKSNNYARFYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCVR PLRSYFSMDYWGQGTSVTVSS
170	GYCD84.5.171 VL	SIVMTQSPKSMSMSVGERVTLSCKASENVDTYVSWYQQKPEQSPKLLIYG ASNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTISSVKAEDLADYHCGQTYSYPWTFGG GTKLEIK

[0139]

[0140] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - NYWIN(SEQ ID NO: 1); CDR2 - DIYPVSGTTNYNEKFKR(SEQ ID NO: 2); 및 CDR3 - GTGRFAY(SEQ ID NO: 3); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 4); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 5); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 6); 또는 각각 최대 3개의 아미노산

치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0141] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - NYWLG(SEQ ID NO: 7); CDR2 - DIYPGGGYTNYIEKFKG(SEQ ID NO: 8); 및 CDR3 - YEGGYYGNYDAMDY(SEQ ID NO: 9); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO: 10); CDR2 - AASNQGS(SEQ ID NO: 11); 및 CDR3 - QQSKAVPRT(SEQ ID NO: 12); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0142] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - GFTFSSYA(SEQ ID NO: 13); CDR2 - ISGSGGST(SEQ ID NO: 14); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 15); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - NIESKD(SEQ ID NO: 16); CDR2 - DDA(SEQ ID NO: 17); 및 CDR3 - QVWDSSSDHVV(SEQ ID NO: 18); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0143] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - GFTFSSYP(SEQ ID NO: 19); CDR2 - ISYHGRNK(SEQ ID NO: 20); 및 CDR3 - ARDRDATPGGTGVGNHGMAV(SEQ ID NO: 21); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - QSLLHSSGYNY(SEQ ID NO: 22); CDR2 - MGS(SEQ ID NO: 23); 및 CDR3 - MQGLQTPPT(SEQ ID NO: 24); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0144] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - GFTFSDNA(SEQ ID NO: 25); CDR2 - ISGTGRTT(SEQ ID NO: 26); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 27); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - QSLVYSDGDTY(SEQ ID NO: 28); CDR2 - KVS(SEQ ID NO: 29); 및 CDR3 - MQGTHWPPNT(SEQ ID NO: 30); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0145] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 31); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 32); 및 CDR3 - MRTSYYFDY(SEQ ID NO: 33); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RASENIFSSLA(SEQ ID NO: 34); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 35); 및 CDR3 - QHHYATPFT(SEQ ID NO: 36); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0146] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - SYWIN(SEQ ID NO: 37); CDR2 - DIYLGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 38); 및 CDR3 - SGGYLGY(SEQ ID NO: 39); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 40); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 41); 및 CDR3 - QHSWEIPYTQHSWEIPYT(SEQ ID NO: 42); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0147] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - NYWIG(SEQ ID NO: 43); CDR2 - DIYPGGGYTNYNENFKG(SEQ ID NO: 44); 및 CDR3 - STTYYSSYWCFDV(SEQ ID NO: 45); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - KSSQSLLNSGNQANYLA(SEQ ID NO: 46); CDR2 - GASTRES(SEQ ID NO: 47); 및 CDR3 - QNDHSYPFT(SEQ ID NO: 48); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0148] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - RYWMS(SEQ ID NO: 49); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 50); 및 CDR3 - PGPTVVATYWYFDV(SEQ ID NO: 51); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGNTYLE(SEQ ID NO: 52); CDR2 - KVSSRFS(SEQ ID NO: 53); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 54); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0149] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - RYWIN(SEQ ID NO: 55); CDR2 - DIYPGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 56); 및 CDR3 - DTTIAY(SEQ ID NO: 57); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이

의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RASQSVTTSRYSYMH(SEQ ID NO: 58); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 59); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 60); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0150] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - GYNMN(SEQ ID NO: 131); CDR2 - NIDPYYGGTNYNQKFKG(SEQ ID NO: 132); 및 CDR3 - GLLSGSFPY(SEQ ID NO: 133); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RASENIYSYLA(SEQ ID NO: 134); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 135); 및 CDR3 - QHHYGSPLT(SEQ ID NO: 136); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0151] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - RSWMS(SEQ ID NO: 137); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 138); 및 CDR3 - FYDGYSIYWYFDV(SEQ ID NO: 139); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGDTYLE(SEQ ID NO: 140); CDR2 - KVSNRFS(SEQ ID NO: 141); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 142); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0152] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 143); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALRS(SEQ ID NO: 144); 및 CDR3 - IAVTYFFDF(SEQ ID NO: 145); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - RASENIFSSFA(SEQ ID NO: 146); CDR2 - NARTLAE(SEQ ID NO: 147); 및 CDR3 - QHHYASPFT(SEQ ID NO: 148); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0153] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 149); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 150); 및 CDR3 - MSTSYYFDY(SEQ ID NO: 151); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - KASQSLFTSVA(SEQ ID NO: 152); CDR2 - SASYRYT(SEQ ID NO: 153); 및 CDR3 - QQHYSSPFT(SEQ ID NO: 154); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0154] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 서열: CDR1 - IYAMN(SEQ ID NO: 155); CDR2 - RIRSKSNNYARFYADSVKD(SEQ ID NO: 156); 및 CDR3 - PLRSYFSMDY(SEQ ID NO: 157); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및 서열: CDR1 - KASENVDTYVS(SEQ ID NO: 158); CDR2 - GASNRYT(SEQ ID NO: 159); 및 CDR3 - GQTYSYPWT(SEQ ID NO: 160); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다.

[0155] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 61의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 62 또는 108의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0156] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 63의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 64 또는 109의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0157] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 65의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 66의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0158] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 68의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 69의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한

다.

[0159] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 71의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 72의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0160] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 74의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 75의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0161] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 76의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 77의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0162] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 78의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 79의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0163] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 80의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 81의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0164] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 82의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 83의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0165] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 161의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 162의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0166] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 163의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 164의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0167] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 165의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 166의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0168] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 167의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 168의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0169] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 169의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 170의 서열을 갖는 VL 도메인, 또는 각각이 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0170] CD84-결합 도메인은 scFv일 수 있다. scFv는, 예를 들어, 약 10 내지 25개 아미노산의 짧은 링커 펩티드로 연결

된 항체의 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함할 수 있다. scFv는 (N-에서 C-말단으로) VH-VL 또는 VL-VH 배향일 수 있다. 일부 구체예에서, scFv는 (N-에서 C-말단으로) VH-VL 배향이다. 일부 구체예에서, scFv는 (N-에서 C-말단으로) VL-VH 배향이다.

[0171] VH 및 VL 도메인을 연결하기 위한 예시적인 링커 서열은 다음을 포함한다:

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGAS (SEQ ID NO: 67)

GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 110)

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 111)

[0172]

[0173] 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 61, 63, 112-125 또는 181-184 중 어느 하나의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성될 수 있다.

[0174] 적합하게는, 변이체는 적어도 SEQ ID NO: 61, 63, 112-125 또는 181-184에 제시된 상응하는 항원-결합 도메인만큼 CD84에 결합할 수 있다. 예를 들어, 변이체는 SEQ ID NO: 61, 63, 112-125 또는 181-184로 제시된 상응하는 항원-결합 도메인과 CD84 사이의 결합 친화도와 적어도 동등한 결합 친화도로 CD84에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0175]

항원-결합 도메인	서열
152.1 (VH)	QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLSCKASGYNFTNYWINWVKLRPGQGLEWIGDIYPVSGTTNYNEKFKRKATLTVDTSSSTGNMQLSSLASEDSALYYCASGTGRFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 61)
152.2 (VLS3VH)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIKRAGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQPGAEVVQPGTSVKLSCKASGYNFTNYWINWVKLRPGQGLEWIGDIYPVSGTTNYNEKFKRKATLTVDTSSSTGNMQLSSLASEDSALYYCASGTGRFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 112)
152.3 (VLS4VH)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIKRAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQPGAEVVQPGTSVKLSCKASGYNFTNYWINWVKLRPGQGLEW

항원-결합 도메인	서열
	IGDIYPVSGTTNYNEKFKRKATLTVDTSSSTGNMQLSSLASEDSA LYYCASGTGRFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 113)
152.4 (VHS3VL)	QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLSCKASGYNFTNYWINWVKLRPGQGL EWIGDIYPVSGTTNYNEKFKRKATLTVDTSSSTGNMQLSSLASED SALYYCASGTGRFAYWGQGTLVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDIVL TQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPK LLIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQH SWEIPYTFGGGTKLEIKRA (SEQ ID NO: 114)
152.5 (VHS4VL)	QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLSCKASGYNFTNYWINWVKLRPGQGL EWIGDIYPVSGTTNYNEKFKRKATLTVDTSSSTGNMQLSSLASED SALYYCASGTGRFAYWGQGTLVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKP GQPPKLLIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTAT YYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIKRA (SEQ ID NO: 115)
153.1 (VH)	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGL EWIGDIYPGGGYTNYIEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSED SAVYFCARYEGGYYGNYDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 63)
153.2 (VLS3VH)	DIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQKPG QPPKLLIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMY FCQQSKAVPRTFGGGTKLEIKRAGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQS GAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIY PGGGYTNYIEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCA RYEGGYYGNYDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 116)
153.3 (VLS4VH)	DIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQKPG QPPKLLIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMY FCQQSKAVPRTFGGGTKLEIKRAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEW IGDIYPGGGYTNYIEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYFCARYEGGYYGNYDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 117)
153.4 (VHS3VL)	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGL EWIGDIYPGGGYTNYIEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSED SAVYFCARYEGGYYGNYDAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQ KPGQPPKLLIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDT AMYFCQQSKAVPRTFGGGTKLEIKRA (SEQ ID NO: 118)
153.5 (VHS4VL)	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGL EWIGDIYPGGGYTNYIEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSED SAVYFCARYEGGYYGNYDAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFM NWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPM EEDDTAMYFCQQSKAVPRTFGGGTKLEIKRA (SEQ ID NO: 119)
B3.4 (VHS3VL)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKWDCSDGRCYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SQPVLTQPPSVSVAPGQTARISCGGDNIESKDVHWYQRKSGQAPV LVVHDDADRPTGIPDRFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQV WDSSSDHVVFGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 120)
B3.5 (VHS4VL)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKWDCSDGRCYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG

[0176]

항원-결합 도메인	서열
	SGGGGSQPVLTQPPSVSVAPGQTARISCGGDNIESKDVHWYQRKS GQAPVLVVHDDADRPTGIPDRFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAD YYCQVWDSSSDHVVFGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 121)
G7.4 (VHS3VL)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYPMHWVRQAPGKGL EWVAAISYHGRNKFYADSVKGRFTISRDDLRSTLYLQMNNLKADD TAVYSCARDRDATPGGTGVGNHGMAVWGQGTTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLLHSSGYNYL DWYLQKPGQSPQLLIHMGSNRASGVPARFSGSGSGTDFTLRISRV EAEDVGVYYCMQGLQTPPTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 122)
G7.5 (VHS4VL)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSSYPMHWVRQAPGKGL EWVAAISYHGRNKFYADSVKGRFTISRDDLRSTLYLQMNNLKADD TAVYSCARDRDATPGGTGVGNHGMAVWGQGTTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLLHSS GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIHMGSNRASGVPARFSGSGSGTDFTL RISRVEAEDVGVYYCMQGLQTPPTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 123)
H3.4 (VHS3VL)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGTGRTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKWDCSDGRCYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SEIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGDTYLNWFQQR PGQSPRRLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG VYYCMQGTHWPPNTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 124)
H3.5 (VHS4VL)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDNAMSWVRQAPGKGL EWVSAISGTGRTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKWDCSDGRCYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSEIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGDTYLN WFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCMQGTHWPPNTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 125)
1.7.3 (VLS4VH)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIFSSLAWYQQRQGKSPQ LLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYCQH HYATPFTFGSGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVTLKESG PGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHI WWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSSSQVFLKIASVDTADTATYYCA RMRTSYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 181)
1.7.5 (VHS4VL)	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVGWIRQPSGK GLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSSSQVFLKIASVDTA DTATYYCARMRTSYYFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIFSSLAWYQQRQG KSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSY YCQHHYATPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 182)
1.226.5 (VHS4VL)	QVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYNFTRYWINWVKLRPGQGL EWIGDIYPGSGSTNYNEKFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSRLASED SALYYCARDTTIAYWGQGTLVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASQSVTTSRYSYMHWYQQKPG QPPKLLIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATY YCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 183)
3.89.5 (VHS4VL)	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFGFSRSWMSWVRQAPGKGL EWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLFLQMSKVRSED TALYYCATFYDGYSIYWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGDTYL EWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDLGVYYCFQGSHVPRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 184)

[0177]

[0178] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 61의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0179] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 63의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0180] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 112의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0181] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 113의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0182] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 114의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%,

적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0183] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 115의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0184] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 116의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0185] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 117의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0186] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 118의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0187] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 119의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0188] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 120의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0189] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 121의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0190] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 122의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0191] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 123의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0192] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 124의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0193] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 125의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0194] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 181의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0195] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 182의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0196] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 183의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0197] 일부 구체예에서, 항원-결합 도메인은 SEQ ID NO: 184의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖고, 바람직하게는 CD84에 결합하는 능력을 유지하는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0198] 항원-결합 도메인은 키메라 항원 수용체(CAR)에 포함될 수 있다.

[0199] **키메라 항원 수용체(CAR)**

[0200] 본원에서 사용되는 "키메라 항원 수용체"(CAR 또는 CAR들)는 세포(예를 들어, T 세포, 예를 들어, 나이브 T 세포, 중심 기억 T 세포, 이펙터 기억 T 세포 또는 이들의 조합)에 항원 특이성을 부여할 수 있는 조작된 수용체를 지칭한다. CAR은 또한 인공 T-세포 수용체, 키메라 T-세포 수용체 또는 키메라 면역수용체로 공지되어 있다. CAR은 또한 다른 면역 세포, 예를 들어, NK 세포(예를 들어, 제대혈(CB), 유도 다능성 줄기 세포(iPSC), 골수(BM), 인간 배아 줄기 세포(hESC), 세포주(예를 들어, NK92 또는 YT), 또는 말초 혈액(PB) 유래)에 항원 특이성을 부여할 수 있다(Mehta *et al*. (2018) Front. Immunol. 9: 283; Liu *et al*. (2020) N. Engl. J. Med. 382: 545-553). NK 세포에서 사용되는 CAR은 다른 막횡단 도메인(예를 들어, NKG2D 또는 DAP12) 및 다른 공동-자극 도메인(예를 들어, NKG2D 또는 2B4)을 가질 수 있고, CAR 작제물 내에 IL-2 또는 IL-15에 대한 유전자를 혼입하여 CAR-NK 세포에 대한 사이토카인 지지를 지속적으로 제공할 수 있다.

[0201] CAR은, 예를 들어, 항원-결합 도메인, 막횡단 도메인 및 세포내 신호전달 도메인(엔도도메인)을 포함할 수 있다.

[0202] 일부 구체예에서, CAR은 CD84-결합 도메인, 막횡단 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. CAR은 하나 이상의 공동-자극 도메인을 포함할 수 있다.

[0203] CAR의 항원-결합 도메인(예를 들어, CD84-결합 도메인)은 본원에 개시된 바와 같은 항원-결합 도메인일 수 있다.

[0204] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 172-180 중 어느 하나의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0205] 적합하게는, 변이체는 적어도 SEQ ID NO: 172-180에 제시된 상응하는 CAR만큼 기능할 수 있다. 예를 들어, 변이체는 SEQ ID NO: 172-180에 제시된 상응하는 CAR과 CD84 사이의 결합 친화도와 적어도 동등한 결합 친화도로 CD84에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0206] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 172의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0207] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 173의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0208] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 174의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0209] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 175의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0210] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 176의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0211] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 177의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0212] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 178의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0213] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 179의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0214] 또 다른 양태에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 180의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다.

[0215] *막횡단 도메인*

[0216] CAR은 막횡단 도메인을 포함할 수 있다.

[0217] 막횡단 도메인은 타입 I, 타입 II 또는 타입 III 막횡단 단백질 중 임의의 것을 포함하는, 막횡단 도메인을 갖는 임의의 단백질로부터의 막횡단 서열을 포함할 수 있다. CAR의 막횡단 도메인은 또한 인공 소수성 서열을 포함할 수 있다. CAR의 막횡단 도메인은 이량체화되지 않도록 선택될 수 있다.

[0218] CAR 작제물에 사용되는 막횡단(TM) 영역의 예는 다음과 같다: a) CD28 TM 영역(Pule *et al., Mol Ther*, 2005, Nov;12(5):933-41; Brentjens *et al., CCR*, 2007, Sep 15;13(18 Pt 1):5426-35; Casucci *et al., Blood*, 2013, Nov 14;122(20):3461-72.); b) OX40 TM 영역(Pule *et al., Mol Ther*, 2005, Nov;12(5):933-41); c) 4-1BB TM 영역(Brentjens *et al, CCR*, 2007, Sep 15;13 (18 Pt 1):5426-35); d) CD3-제타 TM 영역(Pule *et al., Mol Ther*, 2005, Nov;12(5):933-41; Di Stasi *et al. Blood*, 2009, Jun 18;113(25):6392-402.); e) CD8a TM 영역(Maher *et al., Nat Biotechnol*, 2002, Jan;20(1):70-5.; Imai C *et al., Leukemia*, 2004, Apr;18(4):676-84; Brentjens *et al., CCR*, 2007, Sep 15;13(18 Pt 1):5426-35; Milone *et al., Mol Ther*, 2009, Aug;17(8):1453-64.); f) DAP12 TM 영역(Muller, N. *et al. J. Immunother*. 2015, June 01; 38, 197); g) 2B4 TM 영역(Altvater, B. *et al. Clin. Cancer Res*, 2009, July 22; (15) 4857-4866) 및 h) NKG2D TM 영역(Li, Y *et al, Cell Stem Cell*, 2018, Aug 2; (23):181-192).

[0219] 추가의 막횡단 도메인은 당업자에게 명백할 것이다.

[0220] CD8a 막횡단 도메인의 예시적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0221] IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO: 127)

[0222] CD28 막횡단 도메인의 예시적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0223] FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV (SEQ ID NO: 128)

[0224] 일부 구체예에서, 막횡단 도메인은 SEQ ID NO: 127 또는 128의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0225] *신호 펩티드*

[0226] CAR은 CAR이 세포에서 발현될 때 단백질이 세포질세망 및 후속하여 세포 표면으로 유도되도록 하는 신호 펩티드를 포함할 수 있다.

[0227] 신호 펩티드는 성숙 단백질을 생성하기 위해 전위 동안 또는 후에 신호 펩티다제에 의해 인식되고 절단될 수 있다.

[0228] 일부 구체예에서, 신호 펩티드는 CD8a 신호 펩티드이다.

[0229] *스페이서*

[0230] CAR은 항원-결합 도메인을 막횡단 도메인에 연결하는 스페이서를 포함할 수 있다.

[0231] 스페이서 서열은, 예를 들어, IgG1 Fc 영역, IgG1 힌지 또는 인간 또는 마우스 CD8 줄기를 포함할 수 있다.

[0232] 일부 구체예에서, CAR은 CD8a 줄기를 포함한다.

[0233] *세포내 신호전달 도메인*

[0234] 세포내 도메인은 CAR에서 신호-전달을 제공할 수 있다.

[0235] 세포내 신호전달 도메인은 면역 시스템의 특정 세포-표면 단백질의 세포질 꼬리에서 2회 반복되는 4개 아미노산의 보존된 서열인 하나 이상의 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프(ITAM)를 포함할 수 있다. 모티프는 임의의 2개의 다른 아미노산에 의해 류신 또는 이소류신으로부터 분리된 티로신을 함유한다(YxxL/I). 이러한 모티프의 티로신 잔기는 수용체 분자와 이들의 리간드의 상호작용 후에 인산화될 수 있고, 신호전달 경로에 관여하는 다른 단백질에 대한 결합 부위를 형성할 수 있다.

[0236] 세포내 신호전달 도메인은 3개의 ITAM을 함유하는 CD3-제타 엔도도메인을 포함하거나 이로 구성될 수 있다. CD3-제타 엔도도메인은 항원이 결합된 후 T 세포에 활성화 신호를 전달할 수 있다.

[0237] CAR은 하나 이상의 공동-자극 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 4-1BB(CD137로도 알려짐)는 CD3-제타와 함께 사용될 수 있거나, CD28, OX40 및/또는 ICOS는 CD3-제타와 함께 사용되어 증식/생존 신호를 전달할 수 있다. 또한, NKG2D, 2B4(CD244로도 공지됨), DAP12 및/또는 DAP10은 CD3-제타와 함께 사용되어 증식/생존 신호를 전달할 수 있다.

[0238] 일부 구체예에서, CAR은 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함하고 임의의 공동-자극 도메인이 없다. 일부 구체예에서, CAR은 CD3-제타 신호전달 도메인 및 하나 이상의 공동-자극 도메인을 포함한다.

[0239] 일부 구체예에서, CAR은 4-1BB 공동-자극 도메인, CD28 공동-자극 도메인 및 OX40 공동-자극 도메인으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 공동-자극 도메인을 포함한다.

[0240] 바람직한 구체예에서, CAR은 4-1BB 공동-자극 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 CD28 공동-자극 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, CAR은 OX40 공동-자극 도메인을 포함한다.

[0241] 바람직한 구체예에서, CAR은 4-1BB 공동-자극 도메인 및 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함한다.

[0242] CD3-제타 신호전달 도메인의 예시적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNE
LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0243] (SEQ ID NO: 129)

[0244] 일부 구체예에서, 신호전달 도메인은 SEQ ID NO: 129의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0245] 4-1BB 공동-자극 도메인의 예시적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

[0246] (SEQ ID NO: 130)

[0247] CD28 공동-자극 도메인의 예시적인 아미노산 서열은 다음과 같다:

RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHQYPYAPPRDFAAYRS

[0248] (SEQ ID NO: 171)

[0249] 일부 구체예에서, 공동-자극 도메인은 SEQ ID NO: 130 또는 171의 서열, 또는 이와 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 바람직하게는 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하거나 이로 구성된다.

[0250] **폴리뉴클레오티드**

[0251] 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 DNA 또는 RNA, 바람직하게는 DNA를 포함할 수 있다. 이들은 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있다. 바람직하게는 폴리뉴클레오티드는 분리된 폴리뉴클레오티드이다. 다수의 상이한 폴리뉴클레오티드가 유전 부호의 축퇴성의 결과로서 동일한 폴리펩티드를 인코딩할 수 있다는 것이 당업자에 의해 이해될 것이다. 또한, 당업자는 본 발명의 폴리펩티드가 발현되는 임의의 특정 숙주 유기체의 코돈 사용을 반영하기 위해 통상적인 기술을 이용하여 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 폴리펩티드 서열에 영향을 미치지 않는 뉴클레오티드 치환을 만들 수 있음을 이해해야 한다.

[0252] 폴리뉴클레오티드는 당 분야에서 이용 가능한 임의의 방법에 의해 변형될 수 있다. 상기 변형은 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 생체내 활성 또는 수명을 향상시키기 위해 수행될 수 있다.

[0253] DNA 폴리뉴클레오티드와 같은 폴리뉴클레오티드는 재조합적으로, 합성적으로 또는 당업자가 이용 가능한 임의의 수단에 의해 생성될 수 있다. 이들은 또한 표준 기술에 의해 클로닝될 수 있다.

[0254] 더 긴 폴리뉴클레오티드는 일반적으로 재조합 수단을 이용하여, 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응(PCR) 클로닝 기술을 이용하여 생성될 것이다. 이는 클로닝하고자 하는 표적 서열에 측접한 한 쌍의 프라이머(예를 들어, 약 15 내지 30개 뉴클레오티드)를 제조하고, 프라이머를 동물 또는 인간 세포로부터 획득된 mRNA 또는 cDNA와 접촉시키고, 요망되는 영역의 증폭을 발생시키는 조건 하에 PCR을 수행하고, 증폭된 단편을 분리(예를 들어, 아가로스 겔로 반응 혼합물을 정제시킴에 의함)시키고, 증폭된 DNA를 회수하는 것을 포함할 것이다. 프라이머는 증폭된 DNA가 적합한 벡터로 클로닝될 수 있도록 적절한 제한 효소 인식 부위를 함유하도록 설계될 수 있다.

[0255] 폴리뉴클레오티드는 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체 또는 CAR을 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오티드 서열에 작동 가능하게 연결된 프로모터 및/또는 인핸서를 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "작동 가능하게 연결된"은 두 구성요소 모두가 실질적으로 방해받지 않고 이들의 기능을 수행할 수 있는 방식으로 두 구성요소가 함께 연결되는 것을 의미할 수 있다. 예를 들어, 프로모터 및/또는 인핸서는 항원-결합 도메인, 항체 또는 CAR의 발현을 촉진 및/또는 향상시킬 수 있다.

[0256] 일부 구체예에서, 프로모터는 EF1α 프로모터이다.

[0257] **벡터**

[0258] 일부 구체예에서, 폴리뉴클레오티드는 벡터이다.

[0259] 바람직하게는 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스(AAV) 벡터 또는 아데노바이러스 벡터이다. 일부 구체예에서, 폴리뉴클레오티드는 바이러스 게놈이다.

[0260] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 바이러스 벡터를 제공한다.

[0261] 일부 구체예에서, 바이러스 벡터는 바이러스 벡터 입자의 형태이다.

[0262] 벡터는 한 환경으로부터 또 다른 환경으로의 실체의 전달을 가능하게 하거나 촉진하는 도구이다. 본 발명에 따라, 예를 들어, 재조합 핵산 기술에 사용되는 일부 벡터는 실체, 예를 들어, 핵산의 세그먼트(예를 들어, 이종성 DNA 세그먼트, 예를 들어, 이종성 cDNA 세그먼트)가 표적 세포로 전달되는 것을 가능하게 한다. 벡터는 세포내에서 이종성 핵산(DNA 또는 RNA)을 유지하고/하거나, 핵산의 세그먼트를 포함하는 벡터의 복제를 촉진하고/하거나, 핵산의 세그먼트에 의해 인코딩된 단백질의 발현을 촉진할 목적으로 제공될 수 있다.

[0263] 본 발명에서 사용되는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터는 당 분야에 공지된 다양한 기술, 예를 들어, 트렌스펙션, 형질도입 및 형질전환을 이용하여 세포로 도입될 수 있다.

[0264] 트랜스펙션은 핵산을 세포에 혼입시키는 일반적인 과정을 지칭할 수 있고, 폴리뉴클레오티드를 세포에 전달하기 위해 비바이러스 벡터를 사용하는 과정을 포함한다. 형질도입은 바이러스 벡터를 사용하여 핵산을 세포에 혼입시키는 과정을 지칭할 수 있다.

[0265] *레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터*

[0266] 레트로바이러스 벡터는 임의의 적합한 레트로바이러스로부터 유래될 수 있거나 유래 가능할 수 있다. 다수의 상이한 레트로바이러스가 확인되었다. 예로는 뮤린 백혈병 바이러스(MLV), 인간 T-세포 백혈병 바이러스(HTLV), 마우스 유암 바이러스(MMTV), 라우스 육종 바이러스(RSV), 후지나미(Fujinami) 육종 바이러스(FuSV), 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(Mo-MLV), FBR 뮤린 골육종 바이러스(FBR MSV), 몰로니 뮤린 육종 바이러스(Mo-MSV), 아벨손

(Abelson) 뮤린 백혈병 바이러스(A-MLV), 조류 골수구종증 바이러스-29(MC29) 및 조류 적모구증 바이러스(AEV)를 포함한다. 렌티바이러스의 상세한 목록은 문헌[Coffin, J.M. *et al*. (1997) Retroviruses, Cold Spring Harbour Laboratory Press, 758-63]에서 찾아볼 수 있다.

[0267] 레트로바이러스는 크게 "단순" 및 "복합"의 2개의 범주로 나뉠 수 있다. 레트로바이러스는 심지어 7개의 그룹으로 더 나뉠 수 있다. 이들 그룹 중 5개는 발암 가능성을 갖는 레트로바이러스를 나타낸다. 나머지 2개 그룹은 렌티바이러스 및 스푸마바이러스이다.

[0268] 레트로바이러스 및 렌티바이러스 게놈의 기본 구조는 5' LTR 및 3' LTR과 같은 많은 공통 기능을 공유한다. 게놈이 패키징되는 것을 가능하게 하는 패키징 신호, 프라이머-결합 부위, 숙주 세포 게놈으로의 통합을 가능하게 하는 통합 부위, 및 패키징 성분을 인코딩하는 gag, pol 및 env 유전자가 이들 사이 또는 이들 내에 위치되며 - 이들은 바이러스 입자의 어셈블리에 필요한 폴리펩티드이다. 렌티바이러스는 감염된 표적 세포의 핵으로부터 세포질로 통합된 프로바이러스의 RNA 전사체의 효율적인 외수송을 가능하게 하는 HIV 내의 rev 및 RRE 서열과 같은 추가 특징을 갖는다.

[0269] 프로바이러스에서, 이들 유전자는 양 말단에서 긴 말단 반복(LTR)으로 언급되는 영역에 측접되어 있다. LTR은 프로바이러스 통합 및 전사를 담당한다. LTR은 또한 인핸서-프로모터 서열의 역할을 하며, 바이러스 유전자의 발현을 조절할 수 있다.

[0270] LTR 자체는 3개의 요소: U3, R 및 U5로 나뉠 수 있는 동일한 서열이다. U3은 RNA의 3' 말단에 독특한 서열로부터 유래된다. R은 RNA의 양 말단에서 반복되는 서열로부터 유래된다. U5은 RNA의 5' 말단에 독특한 서열로부터 유래된다. 3개 요소의 크기는 상이한 레트로바이러스 사이에 상당히 다를 수 있다.

[0271] 결함이 있는 레트로바이러스 벡터 게놈에서 gag, pol 및 env는 부재하거나 기능하지 않을 수 있다.

[0272] 전형적인 레트로바이러스 벡터에서, 복제에 필수적인 하나 이상의 단백질 코딩 영역 중 적어도 일부가 바이러스로부터 제거될 수 있다. 이로 인해 바이러스 벡터는 복제-결함이 된다.

[0273] 렌티바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터의 더 큰 그룹의 일부이다. 렌티바이러스의 상세한 목록은 문헌[Coffin, J.M. *et al*. (1997) Retroviruses, Cold Spring Harbour Laboratory Press, 758-63]에서 찾아볼 수 있다. 간략하게, 렌티바이러스는 영장류 및 비영장류 그룹으로 나뉠 수 있다. 영장류 렌티바이러스의 예는 인간 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)의 원인 인자인 인간 면역결핍 바이러스(HIV); 및 유인원 면역결핍 바이러스(SIV)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 비영장류 렌티바이러스의 예는 프로토타입 "슬로우 바이러스" 비스나/매디(visna/maedi) 바이러스(VMV) 뿐만 아니라 관련 염소 관절염-뇌염 바이러스(CAEV), 말 감염성 빈혈 바이러스(EIAV), 및 더욱 최근에 기재된 고양이 면역결핍 바이러스(FIV) 및 소 면역결핍 바이러스(BIV)를 포함한다.

[0274] 렌티바이러스 패밀리는 렌티바이러스가 분열 및 비분열 세포 둘 모두를 감염시키는 능력을 갖는다는 점에서 레트로바이러스와 상이하다(Lewis, P *et al*. (1992) EMBO J. 11: 3053-8; Lewis, P.F. *et al*. (1994) J. Virol. 68: 510-6). 대조적으로, 다른 레트로바이러스, 예를 들어, MLV는 비분열 세포 또는 천천히 분열하는 세포, 예를 들어, 근육, 뇌, 폐 및 간 조직을 구성하는 세포를 감염시킬 수 없다.

[0275] 본원에서 사용되는 렌티바이러스 벡터는 렌티바이러스로부터 유래될 수 있는 적어도 하나의 구성요소를 포함하는 벡터이다. 바람직하게는, 그 구성요소 부분은 벡터가 세포를 감염시키고, 유전자를 발현하거나, 복제되는 생물학적 메커니즘에 관여한다.

[0276] 렌티바이러스 벡터는 "영장류" 벡터일 수 있다. 렌티바이러스 벡터는 "비영장류" 벡터(즉, 주로 영장류, 특히 인간을 감염시키지 않는 바이러스로부터 유래됨)일 수 있다. 비영장류 렌티바이러스의 예는 영장류를 자연적으로 감염시키지 않는 렌티바이러스과의 패밀리의 임의의 구성원일 수 있다.

[0277] 렌티바이러스-기반 벡터의 예로서, HIV-1- 및 HIV-2-기반 벡터가 하기에 기재되어 있다.

[0278] HIV-1 벡터는 단순 레트로바이러스에서도 발견되는 시스-작용 요소를 함유한다. gag 오픈 리딩 프레임으로 연장되는 서열은 HIV-1의 패키징에 중요한 것으로 나타났다. 따라서, HIV-1 벡터는 종종 번역 개시 코돈이 돌연변이된 gag의 관련 부분을 함유한다. 또한, 대부분의 HIV-1 벡터는 또한 RRE를 포함하는 env 유전자의 일부를 함유한다. Rev는 RRE에 결합하며, 이는 핵으로부터 세포질로 전장 또는 단일 스플라이싱된 mRNA의 수송을 허용한다. Rev 및/또는 RRE의 부재 하에, 전장 HIV-1 RNA는 핵에 축적된다. 대안적으로, Mason-Pfizer 원숭이 바이러스와 같은 특정 단순 레트로바이러스로부터의 구성적 수송 요소는 Rev 및 RRE에 대한 요건을 완화시키기 위해 사용될

수 있다. HIV-1 LTR 프로모터로부터의 효율적인 전사는 바이러스 단백질 Tat를 필요로 한다.

[0279] 대부분의 HIV-2-기반 벡터는 구조적으로 HIV-1 벡터와 매우 유사하다. HIV-1-기반 벡터와 유사하게, HIV-2 벡터는 또한 전장 또는 단일 스플라이싱된 바이러스 RNA의 효율적인 수송을 위해 RRE를 필요로 한다.

[0280] 바람직하게는, 본 발명에 사용되는 바이러스 벡터는 최소 바이러스 게놈을 갖는다.

[0281] "최소 바이러스 게놈"은 바이러스 벡터가 관심 뉴클레오티드 서열을 표적 숙주 세포에 감염, 형질도입 및 전달하는데 필요한 기능을 제공하기 위해 비필수 요소를 제거하고 필수 요소를 유지하도록 조작된 것으로 이해되어야 한다. 이 전략의 추가 세부사항은 WO 1998/017815에서 찾아볼 수 있다.

[0282] 바람직하게는, 숙주 세포/패키징 세포 내에서 바이러스 게놈을 생산하는데 사용되는 플라스미드 벡터는 RNA 게놈을, 패키징 구성요소의 존재 하에, 표적 세포를 감염시킬 수 있지만 최종 표적 세포 내에서 감염성 바이러스 입자를 생성하기 위한 독립적인 복제가 불가능한 바이러스 입자로 패키징할 수 있을 만큼 충분한 렌티바이러스 유전 정보를 가질 것이다. 바람직하게는, 벡터에는 기능성 gag-pol 및/또는 env 유전자 및/또는 복제에 필수적인 다른 유전자가 없다.

[0283] 그러나, 숙주 세포/패키징 세포 내에서 바이러스 게놈을 생산하는데 사용되는 플라스미드 벡터는 또한 숙주 세포/패키징 세포에서 게놈의 전사를 지시하기 위해 렌티바이러스 게놈에 작동 가능하게 연결된 전사 조절 제어 서열을 포함할 것이다. 이러한 조절 서열은 전사된 바이러스 서열(즉, 5' U3 영역)과 연관된 천연 서열일 수 있거나, 또 다른 바이러스 프로모터(예를 들어, CMV 프로모터)와 같은 이종성 프로모터일 수 있다.

[0284] 벡터는 바이러스 인핸서 및 프로모터 서열이 결실된 자가-불활성화(SIN) 벡터일 수 있다. SIN 벡터는 야생형 벡터와 유사한 효능으로 생체내에서 생성되고 비분열 세포를 형질도입할 수 있다. SIN 프로바이러스의 긴 말단 반복(LTR)의 전사 불활성화는 복제-적격 바이러스에 의한 동원을 방지해야 한다. 이는 또한 LTR의 시스-작용 효과를 제거함으로써 내부 프로모터로부터 유전자의 조절된 발현을 가능하게 해야 한다.

[0285] 벡터는 통합-결함이 있을 수 있다. 통합 결함이 있는 렌티바이러스 벡터(IDLV)는, 예를 들어, 벡터를 촉매적으로 불활성인 인테그라제(예를 들어, 촉매 부위에 D64V 돌연변이를 갖는 HIV 인테그라제; Naldini, L. *et al*. (1996) Science 272: 263-7; Naldini, L. *et al*. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 11382-8; Leavitt, A.D. *et al*. (1996) J. Virol. 70: 721-8)로 패키징하거나 벡터 LTR로부터 필수 att 서열을 변형 또는 결실시키거나(Nightingale, S.J. *et al*. (2006) Mol. Ther. 13: 1121-32), 또는 상기의 조합에 의해 생산될 수 있다.

[0286] **세포**

[0287] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드, 벡터, 항원-결합 도메인 또는 CAR을 포함하는 세포를 제공한다.

[0288] 일부 구체예에서, 세포는 T 세포, 림프구 또는 줄기 세포, 예를 들어, 조혈 줄기 세포, 제대혈 줄기 세포(CB) 또는 유도 다능성 줄기 세포(iPSC)이다.

[0289] 예를 들어, 세포는 CD4 세포, CD8 세포, Th0 세포, Tc0 세포, Th1 세포, Tc1 세포, Th2 세포, Tc2 세포, Th17 세포, Th22 세포, 감마/델타 T 세포, 자연 살해(NK) 세포, 자연 살해 T(NKT) 세포, 이중-음성 T 세포, 나이브 T 세포, 기억 줄기 T 세포, 중심 기억 T 세포, 이펙터 기억 T 세포, 이펙터 T 세포, 사이토카인-유도 살해(CIK) 세포, 조혈 줄기 세포 및 유도 다능성 줄기 세포(iPSC)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0290] 일부 구체예에서, 세포는 T 세포 또는 NK 세포, 바람직하게는 T 세포이다. 일부 구체예에서, T 세포는 자가 또는 동종이계 T 세포이다.

[0291] 세포는 대상체로부터 분리되었을 수 있다.

[0292] 본 발명의 세포는 입양 세포 전달에 사용하기 위해 제공될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "입양 세포 전달"은 환자에게 세포 집단의 투여를 지칭한다. 전형적으로, 세포는 대상체로부터 분리된 후 유전적으로 변형되고 환자에게 투여되기 전에 시험관내에서 배양된 T 세포이다.

[0293] 입양 세포 전달은 동종이계 또는 자가일 수 있다.

[0294] "자가 세포 전달"은 세포의 출발 집단(이후 본 발명에 따른 폴리뉴클레오티드 또는 벡터로 형질도입됨)이 형질도입된 세포 집단이 투여되는 대상체와 동일한 대상체로부터 수득되는 것으로 이해되어야 한다. 자가 전달은 면역학적 비적합성과 관련된 문제를 회피하고 유전적으로 일치하는 공여자의 이용 가능성에 관계없이 대상체에게

이용 가능하므로 유리하다.

[0295] "동종이계 세포 전달"은 세포의 출발 집단(이후 본 발명에 따른 폴리뉴클레오티드 또는 벡터로 형질도입됨)이 형질도입된 세포 집단이 투여되는 대상체와 상이한 대상체로부터 수득되는 것으로 이해되어야 한다. 바람직하게는, 공여자는 면역학적 비적합성의 위험을 최소화하기 위해 세포가 투여되는 대상체와 유전적으로 일치할 것이다. 대안적으로, 공여자가 불일치하고 환자와 관련이 없을 수 있다.

[0296] **치료 방법**

[0297] 또 다른 양태에서, 본 발명은 요법에서 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0298] 일부 구체예에서, 요법은 암의 치료이다.

[0299] 바람직한 구체예에서, 암은 혈액 악성종양이다.

[0300] 바람직한 구체예에서, 암 세포는 CD84를 발현하고, 예를 들어, 혈액 악성종양은 CD84-발현 혈액 악성종양일 수 있다.

[0301] 일부 구체예에서, 암은 만성 림프구성 백혈병(CLL), B-세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 버킷 림프종, 소포 림프종, 외투 세포 림프종, B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군, T-세포 급성 림프모구성 백혈병/림프종(T-ALL), 만성 골수증식성 증후군, 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수단구성 백혈병, 수지상-세포 신생물 및 조직구 육종으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0302] 일부 구체예에서, 암은 만성 림프구성 백혈병(CLL), 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 버킷 림프종, 소포 림프종, 외투 세포 림프종, B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL), T-세포 급성 림프모구성 백혈병/림프종(T-ALL), 급성 골수성 백혈병(AML) 및 조직구 육종으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0303] 바람직한 구체예에서, 암은 CLL, B-세포 림프종, B-ALL, T-ALL 및 AML로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0304] 바람직한 구체예에서, 암은 B-세포 림프종, B-ALL, T-ALL 및 AML로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0305] 또 다른 양태에서, 본 발명은 AML을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0306] 또 다른 양태에서, 본 발명은 T-ALL을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0307] 또 다른 양태에서, 본 발명은 B-세포 림프종을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0308] 또 다른 양태에서, 본 발명은 버킷 림프종을 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물을 제공한다.

[0309] 일부 구체예에서, 암은 T-세포 림프종이 아니다. 일부 구체예에서, 암은 성숙 T-세포 림프종이 아니다. 일부 구체예에서, 암은 CLL이 아니다. 일부 구체예에서, 암은 고형 종양이 아니다.

[0310] 포유동물, 특히 인간의 치료가 바람직하다. 인간 및 수의학적 치료 둘 모두가 본 발명의 범위 내에 있다.

[0311] **약학적 조성물 및 주사 용액**

[0312] 본 발명에 사용하기 위한 제제는 단독으로 투여될 수 있지만, 이들은 일반적으로 특히 인간 요법을 위해 약학적 담체, 부형제 또는 희석제와 혼합하여 투여될 것이다.

[0313] 본 발명의 약제, 예를 들어, 세포 또는 벡터 입자는 약학적 조성물로 제형화될 수 있다. 이들 조성물은 약제에 더하여 약학적으로 허용되는 담체, 희석제, 부형제, 완충제, 안정화제 또는 당 분야에 널리 공지된 다른 물질을 포함할 수 있다. 상기 물질은 비독성이어야 하며, 활성 성분의 효능을 방해하지 않아야 한다. 담체 또는 다른 물질의 정확한 특성은 투여 경로, 예를 들어, 정맥내 또는 동맥내에 따라 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0314] 약학적 조성물은 통상적으로 액체 형태이다. 액체 약학적 조성물은 일반적으로 액체 담체, 예를 들어, 물, 석유, 동물 또는 식물성 오일, 광유 또는 합성유를 포함한다. 생리학적 식염수, 마그네슘 클로라이드, 덱스트로스 또는 다른 당류 용액, 또는 글리콜, 예를 들어, 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜이

포함될 수 있다. 일부 경우에, 계면활성제, 예를 들어, 플루론산(PF68) 0.001%가 이용될 수 있다. 일부 경우에, 혈청 알부민이 조성물에 사용될 수 있다.

[0315] 주사를 위해, 활성 성분은 발열원이 없고, 적합한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 수용액의 형태일 수 있다. 당업자는, 예를 들어, 등장성 비히클, 예를 들어, 소듐 클로라이드 주사액, 링거 주사액 또는 락테이트화 링거 주사액을 사용하여 적합한 용액을 잘 제조할 수 있다. 보존제, 안정화제, 완충제, 항산화제 및/또는 다른 첨가제가 필요에 따라 포함될 수 있다.

[0316] 지연 방출을 위해, 약제는 느린 방출을 위해 제형화되는 약학적 조성물, 예를 들어, 당 분야에 공지된 방법에 따른 생체적합성 중합체로부터 형성된 미세캡슐 또는 리포솜 담체 시스템 내에 포함될 수 있다.

[0317] 세포 요법 제품의 취급은 바람직하게는 세포 요법에 대한 FACT-JACIE 국제 표준을 준수하여 수행된다.

[0318] **투여**

[0319] 일부 구체예에서, 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물은 대상체에게 전신 투여된다.

[0320] 일부 구체예에서, 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물은 대상체에게 국소적으로 투여된다.

[0321] 본원에서 사용되는 용어 "전신 전달" 또는 "전신 투여"는 본 발명의 제제가 순환계 내로 투여되어, 예를 들어, 제제의 광범위한 분포를 달성하는 것을 의미한다. 대조적으로, 국소(topical) 또는 국소(local) 투여는 제제의 전달을 국한된 영역으로 제한한다.

[0322] 일부 구체예에서, 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물은 혈관내, 정맥내 또는 동맥내 투여된다.

[0323] 바람직한 구체예에서, 본 발명의 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 약학적 조성물은 정맥내 투여된다.

[0324] **투여량**

[0325] 당업자는 대상체에게 투여하기 위한 본 발명의 제제의 적절한 용량을 용이하게 결정할 수 있다. 전형적으로, 의사는 개별 환자에게 가장 적합할 실제 투여량을 결정할 것이고, 이는 사용되는 특정 화합물의 활성, 그 화합물의 대사 안정성 및 작용 기간, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 성별, 식이, 투여 방식 및 시간, 배설 속도, 약물 조합, 특정 질환의 중증도, 및 치료를 받는 개인을 포함하는 다양한 요인에 따라 달라질 것이다. 물론 더 높거나 더 낮은 투여량 범위가 필요한 개별적인 경우가 있을 수 있으며, 이는 본 발명의 범위 내에 있다.

[0326] **대상체**

[0327] 본원에서 사용되는 용어 "대상체"는 인간 또는 비인간 동물을 지칭한다.

[0328] 비인간 동물의 예는 척추동물, 예를 들어, 비인간 영장류(특히 고등 영장류), 개, 설치류(예를 들어, 마우스, 래트 또는 기니피그), 돼지 및 고양이와 같은 포유동물을 포함한다. 비인간 동물은 반려 동물일 수 있다.

[0329] 바람직하게는, 대상체는 인간이다.

[0330] **변이체, 유도체, 유사체, 동족체 및 단편**

[0331] 본원에 언급된 특정 단백질 및 뉴클레오티드 이외에, 본 발명은 또한 이들의 변이체, 유도체, 유사체, 동족체 및 단편을 포함한다.

[0332] 본 발명의 맥락에서, 임의의 주어진 서열의 "변이체"는 잔기의 특정 서열(아미노산이든 핵산 잔기든 간에)이 해당 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드가 이의 내인성 기능 중 적어도 하나를 유지하도록 하는 방식으로 변형된 서열이다. 변이체 서열은 천연 발생 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드에 존재하는 적어도 하나의 잔기의 첨가, 결실, 치환, 변형, 대체 및/또는 변경에 의해 획득될 수 있다.

[0333] 본 발명의 단백질 또는 폴리펩티드와 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "유도체"는 결과로서 발생된 단백질 또는 폴리펩티드가 이의 내인성 기능 중 적어도 하나를 유지하도록 하는 조건으로, 서열로부터 또는 서열로의 하나(또는 그 초과)의 아미노산 잔기의 임의의 치환, 변경, 변형, 대체, 결실 및/또는 첨가를 포함한다.

[0334] 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드와 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "유사체"는 임의의 모방체, 즉, 이것이 모방하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드의 내인성 기능 중 적어도 하나를 갖는 화학적 화합물을 포함한다.

[0335] 통상적으로, 아미노산 치환은, 예를 들어, 1, 2 또는 3 내지 10 또는 20개의 치환으로 이루어질 수 있으며, 단, 변형된 서열은 필요한 활성 또는 능력을 보유해야 한다. 아미노산 치환은 비천연 발생 유사체의 사용을 포함할 수 있다.

[0336] 본 발명에서 사용되는 단백질은 또한 침묵 변화를 생성시키고 기능적으로 동등한 단백질을 발생시키는 아미노산 잔기의 결실, 삽입 또는 치환을 가질 수 있다. 의도적 아미노산 치환은 내인성 기능이 유지되는 한 잔기의 극성, 전하, 용해도, 소수성, 친수성 및/또는 양친매성 특성에서의 유사성을 기초로 하여 이루어질 수 있다. 예를 들어, 음으로 하전된 아미노산은 아스파르트산 및 글루탐산을 포함하고; 양으로 하전된 아미노산은 리신 및 아르기닌을 포함하고; 유사한 친수성 값을 갖는 하전되지 않은 극성 헤드 기를 갖는 아미노산은 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌 및 티로신을 포함한다.

[0337] 보존적 치환은, 예를 들어, 하기 표에 따라 이루어질 수 있다. 두 번째 컬럼 내의 동일 블록 및 바람직하게는 세 번째 컬럼 내의 동일 라인에 있는 아미노산은 서로 치환될 수 있다:

[0338]

지방족	비-극성	G A P
		I L V
	극성 - 하전되지 않음	C S T M
		N Q
	극성- 하전됨	D E
		K R H
방향족		F W Y

[0339] 본원에서 사용되는 용어 "동족체"는 야생형 아미노산 서열 또는 야생형 뉴클레오티드 서열과 특정 상동성을 갖는 실체를 의미한다. 용어 "상동성"은 "동일성"과 같을 수 있다.

[0340] 본 맥락에서, 상동성 서열은 대상 서열과 적어도 50%, 55%, 65%, 75%, 85% 또는 90% 동일하고, 바람직하게는 적어도 95%, 96% 또는 97% 또는 98% 또는 99% 동일할 수 있는 아미노산 서열을 포함하는 것으로 간주된다. 통상적으로, 동족체는 대상 아미노산 서열과 동일한 활성 부위 등을 포함할 것이다. 상동성은 또한 유사성(즉, 유사한 화학적 특성/기능을 갖는 아미노산 잔기)의 관점에서 고려될 수 있으나, 본 발명의 맥락에서 서열 동일성의 관점에서 상동성을 표현하는 것이 바람직하다.

[0341] 본 맥락에서, 상동성 서열은 대상 서열과 적어도 50%, 55%, 65%, 75%, 85% 또는 90% 동일하고, 바람직하게는 적어도 95%, 96% 또는 97% 또는 98% 또는 99% 동일할 수 있는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것으로 간주된다. 상동성은 또한 유사성과 관련하여 고려될 수 있으나, 본 발명의 맥락에서 서열 동일성과 관련하여 상동성을 표현하는 것이 바람직하다.

[0342] 바람직하게는, 본원에 상술된 SEQ ID NO 중 어느 하나에 대한 동일성 퍼센트를 갖는 서열에 대한 언급은 지칭된 SEQ ID NO의 전장에 걸쳐 언급된 동일성 퍼센트를 갖는 서열을 지칭한다.

[0343] 상동성 비교는 육안으로 수행되거나, 더욱 일반적으로는 용이하게 이용 가능한 서열 비교 프로그램의 도움으로 수행될 수 있다. 이들 상업적으로 이용 가능한 컴퓨터 프로그램은 2개 이상의 서열 사이의 상동성 또는 동일성 퍼센트를 계산할 수 있다.

[0344] 상동성 퍼센트는 연속 서열에 걸쳐 계산될 수 있으며, 즉, 하나의 서열을 다른 서열과 정렬하고, 한 서열 내의 각각의 아미노산 또는 뉴클레오티드를 한번에 하나의 잔기씩 다른 서열 내의 상응하는 아미노산 또는 뉴클레오티드와 직접 비교한다. 이는 "갭이 없는(ungapped)" 정렬로 언급된다. 전형적으로, 이러한 갭이 없는 정렬은 비교적 적은 수의 잔기에 대해서만 수행된다.

[0345] 이는 매우 간단하고 일관된 방법이나, 예를 들어, 서열의 달리 동일한 쌍에서, 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열 내의 하나의 삽입 또는 결실이 다음 잔기 또는 코돈을 정렬에서 빠지게 하므로, 전체적인 정렬이 수행되는 경우 잠재적으로 상동성 퍼센트의 큰 감소가 발생할 수 있음을 고려하지 못한다. 결과적으로, 대부분의 서열 비교 방법은 전체 상동성 스코어에 과도한 패널티 없이 가능한 삽입 및 결실을 고려한 최적 정렬을 발생시키도록

설계된다. 이는 국소 상동성을 최대화하기 위해 서열 정렬 내에 "갭"을 삽입함으로써 달성된다.

[0346] 그러나, 이러한 더 복잡한 방법은 정렬에서 발생하는 각각에 갭에 "갭 패널티"를 할당하여, 동일한 수의 동일한 아미노산 또는 뉴클레오티드에 대해, 2개의 비교된 서열 사이의 더 높은 관련성을 반영하는 가능한 한 적은 갭을 갖는 서열 정렬이 많은 갭을 갖는 서열 정렬보다 높은 스코어를 달성하도록 할 것이다. 갭의 존재에 대해 비교적 높은 코스트 및 갭 내의 각 후속 잔기에 대해 더 작은 패널티를 부과하는 "어파인 갭 코스트(Affine gap cost)"가 전형적으로 사용된다. 이는 가장 일반적으로 사용되는 갭 스코어링 시스템이다. 높은 갭 패널티는 물론 더 적은 갭을 갖는 최적화된 정렬을 발생시킬 것이다. 대부분의 정렬 프로그램은 갭 패널티가 수정되는 것을 허용한다. 그러나, 서열 비교를 위해 이러한 소프트웨어를 사용하는 경우 기본 값을 사용하는 것이 바람직하다. 예를 들어, GCG Wisconsin Bestfit 패키지를 사용하는 경우, 아미노산 서열에 대한 기본 갭 페널티는 갭에 대해 -12 및 각각의 신장에 대해 -4이다.

[0347] 따라서, 최대 상동성 퍼센트의 계산은 먼저 갭 페널티를 고려한 최적 정렬의 발생을 필요로 한다. 이러한 정렬을 수행하기 위한 적합한 컴퓨터 프로그램은 GCG Wisconsin Bestfit 패키지(University of Wisconsin, USA.; Devereux *et al*. (1984) Nucleic Acids Research 12: 387)이다. 서열 비교를 수행할 수 있는 다른 소프트웨어의 예는 BLAST 패키지(Ausubel *et al*. (1999) ibid - Ch.18 참조), FASTA(Atschul *et al*. (1990) J. Mol. Biol 403-410) 및 비교 도구의 GENEWORKS 스위트를 포함하나 이에 제한되지 않는다. BLAST 및 FASTA 둘 모두는 오프라인 및 온라인 검색에 이용 가능하다(Ausubel *et al*. (1999) ibid, pages 7-58 to 7-60 참조). 그러나, 일부 적용에 대해, GCG Bestfit 프로그램을 이용하는 것이 바람직하다. 또 다른 툴인 BLAST 2 Sequences이 또한 단백질 및 뉴클레오티드 서열을 비교하는데 이용 가능하다(FEMS Microbiol. Lett. (1999) 174: 247-50; FEMS Microbiol. Lett. (1999) 177: 187-8).

[0348] 최종 상동성 퍼센트는 동일성의 측면에서 측정될 수 있으나, 정렬 과정 자체는 통상적으로 올-오어-낫씽(all-or-nothing) 쌍 비교를 기초로 하지 않는다. 대신에, 화학적 유사성 또는 진화적 거리(evolutionary distance)를 기반으로 하는 각 쌍별 비교에 스코어를 할당하는 스케일드 유사성 스코어 매트릭스(scaled similarity score matrix)가 일반적으로 사용된다. 일반적으로 사용되는 상기 매트릭스의 예는 BLOSUM62 매트릭스(BLAST 스위트 프로그램에 대한 기본 매트릭스)이다. GCG Wisconsin 프로그램은 일반적으로 공적 디폴트 값 또는 공급된 경우 맞춤 기호 비교 표를 이용한다(추가 세부사항에 대해서는 사용자 매뉴얼 참조). 일부 적용을 위해, GCG 패키지에 대한 공적 디폴트 값, 또는 다른 소프트웨어의 경우에서, 디폴트 매트릭스, 예를 들어, BLOSUM62를 이용하는 것이 바람직하다.

[0349] 소프트웨어가 최적 정렬를 생성한 후, 상동성 퍼센트, 바람직하게는 서열 동일성 퍼센트를 계산하는 것이 가능하다. 소프트웨어는 전형적으로 서열 비교의 일부로서 이를 수행하며, 수치 결과를 생성한다.

[0350] "단편"은 또한 변이체이며, 상기 용어는 전형적으로 기능적으로 또는, 예를 들어, 검정에서 중요한 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드의 선택된 영역을 지칭한다. 따라서, "단편"은 전장 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드의 일부인 아미노산 또는 핵산 서열을 지칭한다.

[0351] 이러한 변이체는 표준 재조합 DNA 기술, 예를 들어, 부위-지정 돌연변이유발을 사용하여 제조될 수 있다. 삽입이 수행되어야 하는 경우, 삽입 부위의 어느 한 측면에서 천연-발생 서열에 상응하는 5' 및 3' 측접 영역과 함께 삽입체를 인코딩하는 합성 DNA가 제조될 수 있다. 측접 영역은 천연-발생 서열 내의 부위에 상응하는 편리한 제한 부위를 함유할 것이며, 이에 서열은 적절한 효소(들)로 절단될 수 있고, 합성 DNA가 절단부에 라이게이션될 수 있다. 이후, DNA는 본 발명에 따라 발현되어 인코딩된 단백질을 제조한다. 이러한 방법은 단지 DNA 서열의 조작을 위한 당 분야에 공지된 다수의 표준 기술의 예시이며, 다른 공지된 기술이 또한 이용될 수 있다.

[0352] *코돈 최적화*

[0353] 본 발명에서 사용되는 폴리뉴클레오티드는 코돈-최적화될 수 있다. 코돈 최적화는 WO 1999/41397 및 WO 2001/79518에서 이전에 개시되었다. 다양한 세포는 이들의 특정 코돈의 사용에 있어서 상이하다. 이러한 코돈 편향은 그 세포 유형에서 특정 tRNA의 상대적 과다(abundance)에서의 편향에 상응한다. 상응하는 tRNA의 상대적 과다와 일치하여 재단되도록 서열 내의 코돈을 변경시킴에 의해, 발현을 증가시키는 것이 가능하다. 같은 이유로, 상응하는 rRNA가 특정 세포 유형에서 드문 것으로 공지된 코돈을 일부러 선택함에 의해 발현을 감소시키는 것이 가능하다. 따라서, 추가적인 정도의 번역 조절이 가능하다. 포유동물 세포 및 다양한 다른 유기체에 대한 코돈 사용 표가 당 분야에 공지되어 있다.

[0354] 당업자는 개시된 바와 같은 본 발명의 범위를 벗어나지 않고 본원에 개시된 본 발명의 모든 특징을 조합할 수

있음을 이해할 것이다.

[0355] 본 발명의 바람직한 특징 및 구체예는 이제 비제한적인 예에 의해 설명될 것이다.

[0356] 본 발명의 실시는 달리 나타내지 않는 한 화학, 생화학, 분자생물학, 미생물학 및 면역학의 통상적인 기술을 이용할 것이며, 이는 당업자의 능력 내에 있다. 이러한 기술은 문헌에서 설명된다. 예를 들어, 문헌[Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M. *et al*. (1995 and periodic supplements) Current Protocols in Molecular Biology, Ch. 9, 13 and 16, John Wiley & Sons; Roe, B., Crabtree, J., and Kahn, A. (1996) DNA Isolation and Sequencing: Essential Techniques, John Wiley & Sons; Polak, J.M., and McGee, J.O'D. (1990) In Situ Hybridization: Principles and Practice, Oxford University Press; Gait, M.J. (1984) Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; and Lilley, D.M., and Dahlberg, J.E. (1992) Methods in Enzymology: DNA Structures Part A: Synthesis and Physical Analysis of DNA, Academic Press]을 참조한다. 이러한 일반적인 문헌 각각은 본원에 참조로 포함된다.

[0357] **실시예**

[0358] **실시예 1: 혈액 악성종양에서 CD84의 발현**

[0359] 본 발명자들은 CD84가 다양한 악성 혈액 질환에서 과발현된다는 것을 관찰하였다. 본 발명자들은 TCGA 및 GTEx 프로젝트로부터의 9,736개 종양 및 8,587개 정상 샘플의 RNA 시퀀싱 발현 데이터를 분석하기 위한 대화형 웹 서버인 GEPIA를 사용하여(http://aepia.cancer-pku.cn/index.html: Tang *et al*. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. Nucleic Acids Res. 2017; 10.1093/nar/gkx247), 다음을 발견하였다:

[0360] · CD84 발현은 337개 혈액 샘플에서보다 47개 림프성 신생물 미만성 거대 B-세포 림프종(도 1에서 DLBC로 표시됨)에서 4.2배 더 높다.

[0361] · CD84 발현은 70개 골수 샘플에서보다 173개 급성 골수성 백혈병(도 1에서 LAML로 표시됨)에서 10.1배 더 높다.

[0362] 본 발명자들은 또한 상이한 유형의 고형 및 혈액 종양으로부터 유래된 1,100개 초과의 세포주의 패널에 대한 mRNA 발현 데이터를 포함하는 Cancer Cell Line Encyclopaedia(CCLE) 데이터세트를 조사하였다(https://portals.broadinstitute.org/ccle). mRNA 발현의 RNAseq 및 Affymetrix 분석 둘 모두는 CD84가 버킷 림프종, 급성 골수성 백혈병(AML), B-세포 림프종, 만성 골수성 백혈병(CML), B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL) 및 T-세포 급성 림프모구성 백혈병(T-ALL)으로부터 유래된 세포주에서 높은 수준으로 발현되지만, T-세포 림프종 또는 고형 종양에서는 그렇지 않다는 것을 보여주었다(도 2).

[0363] 이후, 본 발명자들은 상이한 혈액 악성종양으로부터 유래된 세포주의 표면에서 CD84의 발현을 평가하였다. 표 1은 사용된 세포주, 이들이 유래한 혈액 악성종양 및 도 3에 제시된 세포계측 분석에 기반한 CD84 발현의 정성적 평가를 보여준다.

[0364] **표 1.** 표면 CD84 발현 평가 및 CD84 발현의 정성적 평가에 사용된 혈액 악성종양으로부터 유래된 세포주의 목록(본원의 실험에서 MOLM-13으로 기재된 급성 골수모구성 백혈병 세포주는 이전에 급성 골수모구성 백혈병 세포주 Kasumi-1인 것으로 표시되었다; Kasumi-1에 대한 언급은 이에 따라 업데이트되었다).

세포주	혈액 악성종양	CD84 발현
Ramos	버킷 림프종	높음
Raji	버킷 림프종	높음
Daudi	버킷 림프종	높음
NALM6	B-세포 급성 림프모구성 백혈병	높음
MOLT-4	T-세포 급성 림프모구성 백혈병	높음
U937	조직구 림프종	낮음
MOLM-13	급성 골수모구성 백혈병	중간
K562	만성 골수성 백혈병(모구성 발증기)	낮음
THP-1	급성 단구성 백혈병	낮음

[0365]

[0366] 본 발명자들은 유세포 분석에 의해 CLL을 갖는 환자로부터의 9개 샘플에서 CD84의 발현을 분석하였다. 표 2는 도 4에 제시된 세포계산 분석에 기반한 CD84 발현의 정성적 평가를 보여준다. 백혈병 세포에서의 CD84의 발현을

림프구(CD84^{moderate}) 및 단핵구(CD84^{high})에서의 CD84의 발현과 비교하였다. 밝은 회색의 히스토그램은 아이소형-매칭된 대조군 항체로의 염색을 나타내고, 어두운 회색의 히스토그램은 특정 CD84 항체로의 염색을 나타낸다.

[0367] **표 2.** 유세포 분석에 의해 평가된 만성 림프구성 백혈병(CLL)을 갖는 9명의 환자로부터의 백혈병 세포에서 CD84의 발현.

[0368]

환자 번호	CD84 발현
P01	중간
P02	높음
P03	높음
P04	높음
P05	높음
P06	높음
P07	높음
P08	높음
P09	높음

[0369] 특정 게놈 데이터베이스는 CD84가 AML에서 mRNA 수준에서 과발현된다는 것을 시사하지만, 본 발명자들은 CD84가 AML로 진단된 환자(n=10)로부터의 악성 세포의 표면에서 발현되는지 확인하고자 하였다(표 3).

[0370] **표 3.** 유세포 분석에 의해 평가된 급성 골수성 백혈병(AML)을 갖는 10명의 환자의 백혈병 세포에서 CD84의 발현.

[0371]

환자 번호	CD84 발현
P01	중간
P02	중간
P03	높음
P04	중간
P05	중간
P06	중간
P07	중간
P08	중간
P09	중간
P10	높음

[0372] 유세포 분석 데이터의 2개의 대표적인 예가 도 5에 도시되어 있다: 환자 04 및 환자 10으로부터의 샘플은 각각 CD84의 중간 및 높은 발현을 나타낸다.

[0373] **실시예 2: CD84 항체**

[0374] **마우스 모노클로날 항체**

[0375] 본 발명자들은 2개의 항-CD84 마우스 모노클로날 항체의 서열을 연구하고 결정하였다(152-1D5 및 153-4D9; Engel *et al*. B-cell antigens section report, in Schlossman S (ed): Leucocyte Typing V. Oxford, UK, Oxford University Press, 1995, page 483; Palou *et al*. Genomic characterization of CD84 reveals the existence of five isoforms differing in their cytoplasmic domains. Tissue Antigens. 2000; 55(2):118-27).

[0376] 또한, 본 발명자들은 BALB/c 마우스를 인간 CD84 단백질로 면역화시킴으로써 방법에 기재된 바와 같이 다수의 새로운 항-CD84 마우스 모노클로날 항체를 생성하였다. 표 3은 방법에 기재된 바와 같이 특성화된 이러한 항체의 특징을 요약한다. 300.19-CD84^{+}, Raji 및 Ramos 세포, 림프구 및 단핵구에 대한 결합은 동일한 양/농도의 항-CD84 항체를 갖는 하이브리도마 상청액을 사용하여 수행되었다.

[0377] **표 4.** 항-CD84 마우스 모노클로날 항체의 특징 요약.

항체	클래스	도메인	300.19-CD84 결합	Raji 결합	Ramos 결합	림프구 결합	단핵구 결합
152-1D5	IgG1, κ	hD1	92.5%	97.6%	73.4%	24.4%	72.0%
153-4D9	IgG1, κ	hD1	88.0%	65.8%	34.3%	15.9%	47.7%
GYCD84.1 108	IgG2a, κ	hD1	93.9%	30.3%	31.2%	13.6%	41.3%
GYCD84.1 226	IgG1, κ	hD1	98.1%	99.9%	80.2%	28.7%	76.1%
GYCD84.2 32	IgG1, κ	hD1	99.0%	99.5%	78.6%	28.7%	78.2%
GYCD84.3 89	IgG1, κ	hD1	83.0%	99.1%	91.3%	24.9%	72.7%
GYCD84.1 97	IgG2a, κ	hD1	97.7%	na	na	na	na
GYCD84.1 207	IgG1, κ	hD1	94.2%	na	na	na	na
GYCD84.1 7	IgG1, κ	hD2	92.6%	91.4%	59.0%	19.0%	64.4%
GYCD84.3 298	IgG1, κ	hD2	93.5%	45.9%	28.3%	16.6%	53.9%
GYCD84.2 27	IgG1, κ	hD2	96.3%	97.5%	66.3%	25.4%	77.5%
GYCD84.5 171	IgG1, κ	hD2	93.2%	73.9%	35.1%	26.8%	64.8%

[0378]

[0379] 경쇄(VL)로부터의 가변 영역에 상응하는 서열 및 중쇄(VH)로부터의 가변 영역에 상응하는 서열은 마우스 Ig-프라이머 세트(Novagen)를 사용하여 상이한 하이브리도마로부터 결정되었다. 이 영역의 Sanger 시퀀싱은 AbsoluteAntibody(영국)에 의해 수행되었다. 항체-서열 분석을 다음과 같이 수행하였다: 상보성-결정 영역(CDR) 및 프레임워크 영역(FR)은 Abysis(서열은 Kabat-넘버링 체계에 의해 정의됨), IMGT 및 IgBLAST 데이터베이스를 사용하여 확인되었다.

[0380] 표 5는 이러한 항체의 VH 및 VL 서열을 보여준다. 각 서열에서 3개의 CDR은 볼드체로 밑줄로 강조된다.

[0381] **표 5.** 항-CD84 마우스 모노클로날 항체의 VH 및 VL 서열.

항체	VH	VL
152-1D5	QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLSCKASGYNF TNYWINWVKLRPGQGLEWIGDIYPVSGTT NYNEKFKRKATLTVDTSSSTGNMQLSSLA SEDSALYYCASGTGRFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 61)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSV STSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKFASNL ESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEDT ATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)
153-4D9	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTF TNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYT NYIEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLT SEDSAVYFCARYEGGYYGNYDAMDYWGQG TSVTVSS (SEQ ID NO: 63)	DIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESV DNYGISFMNWFQQKPGQPPKLLIYAASNQ GSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDT AMYFCQQSKAVPRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 64)
GYCD84.1-7	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSL STSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDV KRYNPALKSRLTISKDTSSSQVFLKIASV DTADTATYYCARMRTSYYFDYWGQGTTLT VSS (SEQ ID NO: 74)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENI FSSLAWYQQRQGKSPQLLVYNAKTLAEGV PSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYY CQHHYATPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)
GYCD84.1-97	QVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYNF TSYWINWVKLRPGQGLEWIGDIYLGSGST NYNEKFKSKATLTVDTSSSSAYMQLSSLV SEDSALYYCATSGGYLGYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 76)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSV STSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKFASNL ESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEDT ATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 77)
GYCD84.1-108	QVQLQQSGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTF TNYWIGWVRQRPGHGLEWIGDIYPGGGYT NYNENFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLT SEDSAIYYCARSTTYYSSYWCFDVWGPGT TVTVSS (SEQ ID NO: 78)	DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSL LNSGNQANYLAWYQQKPGQPPKLLINGAS TRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAE DLAVYYCQNDHSYPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 79)
GYCD84.1-207	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDF SRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTI NYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVR SEDTALYYCARPGPTVVATYWYFDVWGAG TTVTVSS (SEQ ID NO: 80)	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSI VHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSS RFSGVPDRFSGSASGTDFTLKISRVEAED LGVYYCFQGSHVPRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 81)
GYCD84.1-226	QVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYNF TRYWINWVKLRPGQGLEWIGDIYPGSGST NYNEKFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSRLA SEDSALYYCARDTTIAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 82)	DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASQSV TTSRYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKFASNL ESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEDT ATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 83)
GYCD84.2.32	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSF TGYNMNWVKQSNGKSLEWIGNIDPYYGGT NYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLT SEDSAVYYCARGLLSGSFPYWGQGTLVTV SA (SEQ ID NO: 161)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENI YSYLAWYQQKQGKSPQLLVYNAKTLAEGV PSRFSGSGSGTQFSLKINSLHPEDFGSYF CQHHYGSPLTFGAGTKLEVK (SEQ ID NO: 162)
GYCD84.3.89	EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFGF SRSWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTI	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSI VHSNGDTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSN

[0382]

	NYTPSLKDKFIISRDNAKNTLFLQMSKVRSEDTALYYCATFYDGYSIYWYFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO: 163)	RFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 164)
GYCD84.3.298	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALRSRLTISKDTSSSQVFLNIASVDTADTATYYCTRIAVTYFFDFWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 165)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIFSSFAWYQQKRGRSPQLLVYNARTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGTYFCQHHYASPFTFGSGTELGVK (SEQ ID NO: 166)
GYCD84.2.27	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLTTSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSSSQVFLKIASVDTADTASYYCARMSTSYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 167)	DIVMTQSHKFMSTSLGDRVSISCKASQSLFTSVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSSPFTFGSGTKLGIK (SEQ ID NO: 168)
GYCD84.5.171	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLACAASGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSNNYARFYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRPLRSYFSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 169)	SIVMTQSPKSMSMSVGERVTLSCKASENVDTYVSWYQQKPEQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTISSVKAEDLADYHCGQTYSYPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 170)

[0383]

[0384] **인간 scFv**

[0385] 파지 디스플레이 스크리닝을 사용하여 CD84에 결합하는 신규한 인간 scFv를 확인하였다. 3개의 상이한 scFv가 확인되었다(R3-B3, R3-G7 및 R3-H3); 중쇄(VH) 및 경쇄(VL)의 가변 도메인에서 CDR 및 FR의 서열은 표 6에 제시되어 있다.

[0386] **표 6.** 항-CD84 인간 scFv의 VL 및 VH 서열.

	R3-B3	R3-G7	R3-H3
VH FR1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 84)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTAS (SEQ ID NO: 92)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 100)
VH CDR1	GFTFSSYA (SEQ ID NO: 13)	GFTFSSYP (SEQ ID NO: 19)	GFTFSDNA (SEQ ID NO: 25)
VH FR2	MSWVRQAPGKGLEWVSA (SEQ ID NO: 85)	MHWVRQAPGKGLEWVAA (SEQ ID NO: 93)	MSWVRQAPGKGLEWVSA (SEQ ID NO: 101)
VH CDR2	ISGSGGST (SEQ ID NO: 14)	ISYHGRNK (SEQ ID NO: 20)	ISGTGRTT (SEQ ID NO: 26)
VH FR3	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO: 86)	FYADSVKGRFTISRDDLRSTLYLQMNNLKADDTAVYSC (SEQ ID NO: 94)	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO: 102)
VH CDR3	AKWDCSDGRCYWAY (SEQ ID NO: 15)	ARDRDATPGGTGVGNHGMAV (SEQ ID NO: 21)	AKWDCSDGRCYWAY (SEQ ID NO: 27)
VH FR4	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 87)	WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 95)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 103)
VH	SEQ ID NO: 65	SEQ ID NO: 68	SEQ ID NO: 71
Linker	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGAS (SEQ ID NO: 67)	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGAS (SEQ ID NO: 70)	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGAS (SEQ ID NO: 73)
VL FR1	QPVLTQPPSVSVAPGQTARISCGGD (SEQ ID NO: 88)	EIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCKSS (SEQ ID NO: 96)	EIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSS (SEQ ID NO: 104)
VL CDR1	NIESKD (SEQ ID NO: 16)	QSLLHSSGYNY (SEQ ID NO: 22)	QSLVYSDGDTY (SEQ ID NO: 28)
VL FR2	VHWYQRKSGQAPVLVVH (SEQ ID NO: 89)	LDWYLQKPGQSPQLLIH (SEQ ID NO: 97)	LNWFQQRPGQSPRRLIY (SEQ ID NO: 105)
VL CDR2	DDA (SEQ ID NO: 17)	MGS (SEQ ID NO: 23)	KVS (SEQ ID NO: 29)
VL FR3	DRPTGIPDRFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC (SEQ ID NO: 90)	NRASGVPARFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO: 98)	NRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO: 106)
VL CDR3	QVWDSSSDHVV (SEQ ID NO: 18)	MQGLQTPPT (SEQ ID NO: 24)	MQGTHWPPNT (SEQ ID NO: 30)
VL FR4	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 91)	FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 99)	FGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 107)
VL	SEQ ID NO: 66	SEQ ID NO: 69	SEQ ID NO: 72

[0387]

[0388] **실시예 3: CD84 CAR 조작**

[0389] 본 발명자들은 여러 항-CD84 CAR 작제물(CAR84)을 조작하였다. 완전한 CAR84 서열을 신호 펩티드, CD84에 특이적인 scFv, CD8a 힌지 및 막횡단 영역, 공동-자극 도메인 4-1BB 및 신호전달 도메인 CD3-제타를 포함하는 3세대 렌티바이러스 벡터 pCCL(Dull *et al*. A Third-Generation Lentivirus Vector with a Conditional Packaging

System. J. Virol. 1998:72:8463-8471)로, EF1α 프로모터의 제어 하에 클로닝하였다(도 6).

[0390] 상이한 버전의 scFv 도메인을 상기 기재된 항체에 기초하여 설계하였다. 이러한 scFv는 VH 및 VL 서열의 순서(일부 버전은 VH 사슬만 가짐) 및 3개(S3) 또는 4개(S4) 모티프(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)를 사용하는 VH와 VL 사이에 사용되는 링커가 다르다. 각 CAR 버전에 부여된 이름은 scFv의 설계를 반영한다. pCCL 벡터에서 합성되고 클로닝된 상이한 scFv 도메인의 서열은 표 7에 열거되어 있다.

[0391] **표 7.** 설계된 각각의 CD84 CAR에서 사용되는 scFv 도메인의 서열 및 구조.

CAR 명칭	항체/ **scFv**	첫 번째 도메인	링커	두 번째 도메인
152.1 (VH)	152-1D5	**VH:** QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLS CKASGYNFTNYWINWVKLRPG QGLEWIGDIYPVSGTTNYNEK FKRKATLTVDTSSSTGNMQLS SLASEDSALYYCASGTGRFAY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 61)		
152.2 (VLS3VH)	152-1D5	**VL:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATI SCRASQSVSTSSYSYMHWYQQ KPGQPPKLLIKFASNLESGVP ARFSGSGSGTDFTLNIHPVEE	GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID	**VH:** QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLS CKASGYNFTNYWINWVKLRPG QGLEWIGDIYPVSGTTNYNEK FKRKATLTVDTSSSTGNMQLS

[0392]

CAR 명칭	항체/ scFv	첫 번째 도메인	링커	두 번째 도메인
		EDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKRA (SEQ ID NO: 108)	NO: 110)	SLASEDSALYYCASGTGRFAY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 61)
152.3 (VLS4VH)	152-1D5	**VL:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATI SCRASQSVSTSSYSYMHWYQQ KPGQPPKLLIKFASNLESGVP ARFSGSGSGTDFTLNIHPVEE EDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKRA (SEQ ID NO: 108)	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 111)	**VH:** QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLS CKASGYNFTNYWINWVKLRPG QGLEWIGDIYPVSGTTNYNEK FKRKATLTVDTSSSTGNMQLS SLASEDSALYYCASGTGRFAY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 61)
152.4 (VHS3VL)	152-1D5	**VH:** QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLS CKASGYNFTNYWINWVKLRPG QGLEWIGDIYPVSGTTNYNEK FKRKATLTVDTSSSTGNMQLS SLASEDSALYYCASGTGRFAY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 61)	GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 110)	**VL:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATI SCRASQSVSTSSYSYMHWYQQ KPGQPPKLLIKFASNLESGVP ARFSGSGSGTDFTLNIHPVEE EDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKRA (SEQ ID NO: 108)
152.5 (VHS4VL)	152-1D5	**VH:** QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLS CKASGYNFTNYWINWVKLRPG QGLEWIGDIYPVSGTTNYNEK FKRKATLTVDTSSSTGNMQLS SLASEDSALYYCASGTGRFAY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 61)	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 111)	**VL:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATI SCRASQSVSTSSYSYMHWYQQ KPGQPPKLLIKFASNLESGVP ARFSGSGSGTDFTLNIHPVEE EDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIKRA (SEQ ID NO: 108)
153.1 (VH)	153-4D9	**VH:** QVQLQQSGAELVRPGTSVKIS CKASGYTFTNYWLGWVKQRPG HGLEWIGDIYPGGGYTNYIEK FKGKATLTADTSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYFCARYEGGYYG NYDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 63)		
153.2 (VLS3VH)	153-4D9	**VL:** DIVLTQSPGSLAVSLGQRATI SCRASESVDNYGISFMNWFQQ KPGQPPKLLIYAASNQGSGVP ARFSGSGSGTDFSLNIHPMEE DDTAMYFCQQSKAVPRTFGGG TKLEIKRA (SEQ ID NO: 109)	GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 110)	**VH:** QVQLQQSGAELVRPGTSVKIS CKASGYTFTNYWLGWVKQRPG HGLEWIGDIYPGGGYTNYIEK FKGKATLTADTSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYFCARYEGGYYG NYDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 63)
153.3 (VLS4VH)	153-4D9	**VL:** DIVLTQSPGSLAVSLGQRATI SCRASESVDNYGISFMNWFQQ KPGQPPKLLIYAASNQGSGVP ARFSGSGSGTDFSLNIHPMEE DDTAMYFCQQSKAVPRTFGGG TKLEIKRA (SEQ ID NO: 109)	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 111)	**VH:** QVQLQQSGAELVRPGTSVKIS CKASGYTFTNYWLGWVKQRPG HGLEWIGDIYPGGGYTNYIEK FKGKATLTADTSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYFCARYEGGYYG NYDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 63)
153.4 (VHS3VL)	153-4D9	**VH:** QVQLQQSGAELVRPGTSVKIS CKASGYTFTNYWLGWVKQRPG HGLEWIGDIYPGGGYTNYIEK	GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ	**VL:** DIVLTQSPGSLAVSLGQRATI SCRASESVDNYGISFMNWFQQ KPGQPPKLLIYAASNQGSGVP

[0393]

CAR 명칭	항체/ scFv	첫 번째 도메인	링커	두 번째 도메인
		FKGKATLTADTSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYFCARYEGGYYG NYDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 63)	ID NO: 110)	ARFSGSGSGTDFSLNIHPMEE DDTAMYFCQQSKAVPRTFGGG TKLEIKRA (SEQ ID NO: 109)
153.5 (VHS4VL)	153-4D9	**VH:** QVQLQQSGAELVRPGTSVKIS CKASGYTFTNYWLGWVKQRPG HGLEWIGDIYPGGGYTNYIEK FKGKATLTADTSSSTAYMQLS SLTSEDSAVYFCARYEGGYYG NYDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 63)	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 111)	**VL:** DIVLTQSPGSLAVSLGQRATI SCRASESVDNYGISFMNWFQQ KPGQPPKLLIYAASNQGSGVP ARFSGSGSGTDFSLNIHPMEE DDTAMYFCQQSKAVPRTFGGG TKLEIKRA (SEQ ID NO: 109)
B3.4 (VHS3VL)	R3-B3	**VH:** QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKWDCSDGR CYWAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 65)	GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 110)	**VL:** QPVLTQPPSVSVAPGQTARIS CGGDNIESKDVHWYQRKSGQA PVLVVHDDADRPTGIPDRFSG SNSGNTATLTISRVEAGDEAD YYCQVWDSSSDHVVFGGGTQL TVL (SEQ ID NO: 66)
B3.5 (VHS4VL)	R3-B3	**VH:** QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKWDCSDGR CYWAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 65)	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 111)	**VL:** QPVLTQPPSVSVAPGQTARIS CGGDNIESKDVHWYQRKSGQA PVLVVHDDADRPTGIPDRFSG SNSGNTATLTISRVEAGDEAD YYCQVWDSSSDHVVFGGGTQL TVL (SEQ ID NO: 66)
G7.4 (VHS3VL)	R3-G7	**VH:** QVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CTASGFTFSSYPMHWVRQAPG KGLEWVAAISYHGRNKFYADS VKGRFTISRDDLRSTLYLQMN NLKADDTAVYSCARDRDATPG GTGVGNHGMAVWGQGTTVTVS S (SEQ ID NO: 68)	GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 110)	**VL:** EIVLTQSPLSLPVTPGEPASI SCKSSQSLLHSSGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIHMGSNRASGV PARFSGSGSGTDFTLRISRVE AEDVGVYYCMQGLQTPPTFGG GTKLEIK (SEQ ID NO: 69)
G7.5 (VHS4VL)	R3-G7	**VH:** QVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CTASGFTFSSYPMHWVRQAPG KGLEWVAAISYHGRNKFYADS VKGRFTISRDDLRSTLYLQMN NLKADDTAVYSCARDRDATPG GTGVGNHGMAVWGQGTTVTVS S (SEQ ID NO: 68)	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 111)	**VL:** EIVLTQSPLSLPVTPGEPASI SCKSSQSLLHSSGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIHMGSNRASGV PARFSGSGSGTDFTLRISRVE AEDVGVYYCMQGLQTPPTFGG GTKLEIK (SEQ ID NO: 69)
H3.4 (VHS3VL)	R3-H3	**VH:** EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDNAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGTGRTTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKWDCSDGR CYWAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 71)	GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 110)	**VL:** EIVLTQSPLSLPVTLGQPASI SCRSSQSLVYSDGDTYLNWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNRDSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCMQGTHWPPNTFG QGTRLEIK (SEQ ID NO: 72)
H3.5 (VHS4VL)	R3-H3	**VH:** EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDNAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGTGRTTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAKWDCSDGR	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID	**VL:** EIVLTQSPLSLPVTLGQPASI SCRSSQSLVYSDGDTYLNWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNRDSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCMQGTHWPPNTFG

[0394]

CAR 명칭	항체/ scFv	첫 번째 도메인	링커	두 번째 도메인
		CYWAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 71)	NO: 111)	QGTRLEIK (SEQ ID NO: 72)

[0395]

[0396] 완전한 CAR 서열은 표 8에 제시되어 있다.

[0397] **표 8.** 완전한 CAR 서열.

CAR 명칭	항체/ **scFv**	**CAR** 서열
152.3 (VLS4VH)	152-1D5	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSV STSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHP VEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIKRAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLQQPGAEVVQPGTSVKLSCKASGYNFTNYWINWVKLRPGQGLEWIGDIY PVSGTTNYNEKFKRKATLTVDTSSSTGNMQLSSLASEDSALYYCASGTGRFA YWGQGTLVTVSATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 172)
153.4 (VHS3VL)	153-4D9	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGQVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTF TNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYIEKFKGKATLTADTSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCARYEGGYYGNYDAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSDIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQP PKLLIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKAVP RTFGGGTKLEIKRATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 173)
153.5 (VHS4VL)	153-4D9	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGQVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTF TNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYIEKFKGKATLTADTSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCARYEGGYYGNYDAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQ KPGQPPKLLIYAASNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQ SKAVPRTFGGGTKLEIKRATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 174)
G7.5 (VHS4VL)	R3-G7	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTF SSYPMHWVRQAPGKGLEWVAAISYHGRNKFYADSVKGRFTISRDDLRSTLYL QMNNLKADDTAVYSCARDRDATPGGTGVGNHGMAVWGQGTTVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLLHSSGYNYL DWYLQKPGQSPQLLIHMGSNRASGVPARFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGV YYCMQGLQTPPTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 175)
H3.5 (VHS4VL)	R3-H3	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF SDNAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGTGRTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKWDCSDGRCYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSEIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGDTYLNWFQQRPGQSP RRLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPP NTFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL

[0398]

CAR 명칭	항체/ scFv	CAR 서열
		DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 176)
1.7.3 (VLS4VH)	GYCD84. 1-7	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGDIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENI FSSLAWYQQRQGKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPE DFGSYYCQHHYATPFTFGSGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVTLKE SGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDV KRYNPALKSRLTISKDTSSSQVFLKIASVDTADTATYYCARMRTSYYFDYWG QGTTLTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 177)
1.7.5 (VHS4VL)	GYCD84. 1-7	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGQVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSL STSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDVKRYNPALKSRLTISKDTSSSQVF LKIASVDTADTATYYCARMRTSYYFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSDIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIFSSLAWYQQRQGKSPQL LVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYCQHHYATPFTF GSGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 178)
1.226.5 (VHS4VL)	GYCD84. 1-226	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGQVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYNF TRYWINWVKLRPGQGLEWIGDIYPGSGSTNYNEKFKSKATLTVDTSSSTAYM QLSRLASEDSALYYCARDTTIAYWGQGTLVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSDIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASQSVTTSRYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKFASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTF GGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 179)
3.89.5 (VHS4VL)	GYCD84. 3-89	MALPVTGLLLSLGLLLHAARPTGEVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFGF SRSWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLFL QMSKVRSEDTALYYCATFYDGYSIYWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGDTYLEWYLQ KPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQ GSHVPRTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 180)

[0399]

[0400] **CD84 CART 생산**

[0401] 상이한 버전의 pCCL-EF1α-CD84 벡터를 함유하는 렌티바이러스(LV)를 HEK293-T 세포에서 생산하고, 형질도입 유닛의 수를 제한 희석 방법에 의해 결정하였다. 이후, 렌티바이러스를 사용하여 전혈로부터 분리된 T 세포를 형질도입하였다. 이후, 이러한 CAR-T 세포를 6 내지 8일 동안 확장시켰다.

[0402] 하기 표(표 9-11)는 상이한 CART에 대한 3회의 상이한 형질도입 후 수득된 T 세포의 수 뿐만 아니라 이들의 표면에서 CD84 CAR을 발현한 이들 T 세포의 백분율을 요약한다.

[0403] **표 9.** 152-1D5 항체를 기반으로 하는 CD84 CAR을 발현하는 렌티바이러스로 3회의 독립적인 형질도입 후 수득된 CAR-양성 T 세포의 수 및 백분율.

	형질도입 #1		형질도입 #2		형질도입 #3	
	세포 수	% CAR	세포 수	% CAR	세포 수	% CAR
UT	19.2 x10^6	0%	8.7 x10^6	0.0%	7.8 x10^6	0.0%
152.1	4.6 x10^6	2.5%	5.5 x10^6	2.1%	6.2 x10^6	2.3%
152.2	0.9 x10^6	66.0%	1.0 x10^6	87.8%	1.0 x10^6	86.3%
152.3	2.1 x10^6	66.3%	0.5 x10^6	83.9%	0.7 x10^6	89.1%
152.4	1.6 x10^6	38.2%	2.0 x10^6	60.7%	1.5 x10^6	69.5%
152.5	1.1 x10^6	47.7%	2.6 x10^6	75.4%	2.4 x10^6	73.8%

[0404]

[0405] **표 10.** 153-4D9 항체를 기반으로 하는 CD84 CAR을 발현하는 렌티바이러스로 3회의 독립적인 형질도입 후 수득된 CAR-양성 T 세포의 수 및 백분율.

	형질도입 #1		형질도입 #2		형질도입 #3	
	세포 수	% CAR	세포 수	% CAR	세포 수	% CAR
UT	5.7 x10^6	0%	18.4 x10^6	0%	12.3 x10^6	0%
153.1	0.2 x10^6	0%	13.9 x10^6	1.4%	11.6 x10^6	0.5%
153.2	5.2 x10^6	1.3%	13.0 x10^6	4.5%	8.3 x10^6	0.5%
153.3	6.5 x10^6	19.4%	11.3 x10^6	43.4%	7.3 x10^6	60.5%
153.4	5.7 x10^6	39.2%	7.6 x10^6	39.8%	5.5 x10^6	34.7%
153.5	4.3 x10^6	52.1%	12.6 x10^6	51.7%	4.5 x10^6	58.7%

[0406]

[0407] **표 11.** R3-B3, R3-G7 및 R3-H3 scFv를 기반으로 하는 CD84 CAR을 발현하는 렌티바이러스로 3회의 독립적인 형질도입 후 수득된 CAR-양성 T 세포의 수 및 백분율.

	형질도입 #1		형질도입 #2		형질도입 #3	
	세포 수	% CAR	세포 수	% CAR	세포 수	% CAR
UT	41.8 x10^6	0%	79.4 x10^6	0%	27.3 x10^6	0%
B3.4	55.4 x10^6	20.4%	49.1 x10^6	6.5%	22.3 x10^6	7.8%
B3.5	47.5 x10^6	11.6%	38.9 x10^6	3.8%	16.6 x10^6	5.3%
G7.4	49.9 x10^6	56.3%	43.4 x10^6	30.7%	32.6 x10^6	39.1%
G7.5	42 x10^6	64.3%	48.8 x10^6	34%	10.3 x10^6	47.4%
H3.4	18.7 x10^6	51.9%	59.9 x10^6	54%	19.4 x10^6	33.7%
H3.5	10.3 x10^6	55.6%	52.5 x10^6	62.7%	34.6 x10^6	40.2%

[0408]

[0409] 하기 CAR LV는 CAR-양성 T 세포의 효율적인 확장을 초래하지 않았다: 152.1, 153.1, 153.2, B3.4 및 B3.5. 152.1 및 153.1 CAR은 추가 실험에서 사용되지 않았다.

[0410] **실시예 4: CD84 CART 시험관내 사이토카인 생산**

[0411] 사이토카인을 방출하는 각 CART 세포의 능력을 평가하기 위해, 이펙터-표적 세포 공동-배양물의 상청액을 수집하였다. CD84^{high} 세포주 Ramos를 표적 세포로서 2:1 이펙터:표적 세포 비로 사용하였다. 상청액에서 IFN-γ(도 7), IL-2(도 8), 그랜자임-B(도 9) 및 TNF-α(도 10)의 수준은 공동-배양 24시간 후 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA)에 의해 결정되었다. 형질도입되지 않은 T 세포(UT)를 음성 대조군으로 사용하였다(표적 세포와의 공동-배양물에서). 4회의 상이한 독립적인 실험을 수행하였다.

[0412] 이러한 결과는 R3-B3 scFv CAR 결합 도메인을 갖는 CART 세포가 사이토카인 방출 활성이 부족하여 후속 실험에서 사용되지 않았음을 보여주었다. 반면, R3-H3 scFv CAR 결합 도메인을 갖는 CART 세포는 다량의 사이토카인을 방출하였고(이들 2개의 CART 세포(H3.4 및 H3.5)는 가장 큰 전염증성 프로파일(TNF-α 분비 기반)을 가진 세포임), 그 다음이 152-1D5 항체 CAR 결합 도메인을 갖는 CART 세포였다(또한 높은 사이토카인 방출 프로파일을 나타냄). 152-1D5 CART 세포는 scFv 설계(VH-VL 순서 및 링커 길이)와 무관하게 유사한 프로파일을 나타내었다. 153-4D9 및 R3-G7 항체에 기반한 CART 세포는 사이토카인을 거의 분비하지 않는 153.3 CART 세포를 제외하고, R3-H3 및 152-1D5 CART 세포와 비교하여 더 낮은 사이토카인 방출을 갖는 유사한 프로파일을 갖는다.

[0413] **실시예 5: 항-CD84 CART 시험관내 세포독성**

[0414] 시험관내 CART84 세포의 효능을 평가하기 위해, 본 발명자들은 림프구(Ramos, NALM6 및 MOLT-4 세포주) 및 골수성 기원(K562 및 MOLM-13 세포주) 둘 모두로부터의 상이한 수준의 CD84 발현을 갖는 여러 GFP-발현 표적 세포주에 대한 각각의 CART 세포의 세포독성 검정을 수행하였다. CART 세포독성은 세포계측에 의해 살아있는 GFP-양성 세포의 백분율을 결정함으로써 24시간 공동-배양 후 평가되었다. 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적 세포 비를 시험하였다.

[0415] 먼저, 본 발명자들은 CD84^{high} Ramos 세포주에 대해 모든 CAR을 시험하였다(도 11). 2:1의 이펙터:표적 비에 대한 결과가 제시되어 있다. R3-H3 및 152-1D5 CART 세포는 이러한 세포주에 대해 가장 높은 세포독성 활성을 나타낸 반면, 153-4D9 및 R3-G7 CART 세포는 더 낮은 세포독성 활성을 나타내었다. 153.3 CART 세포는 153-4D9 작제물에 기반한 모든 CAR의 가장 낮은 세포독성 활성을 나타내었다.

[0416] 다음으로, 본 발명자들은 CD84의 낮은 발현을 갖는 골수 세포주인 K562에 대해 모든 CAR을 시험하였다(도 12). 2:1의 이펙터:표적 비에 대한 결과가 제시되어 있다. 152-1D5 및 153-4D9 항체에 기반한 CAR은 UT 세포와 비교하여 통계적으로 유의한 세포독성 활성을 나타내었다.

[0417] Ramos 및 K562에 대한 세포독성에 기초하여, 본 발명자들은 추가 특성화를 위해 하기 CART 세포를 선택하였다: 152.3, 153.4, 153.5, G7.5 및 H3.5. 본 발명자들은 공동-배양 24시간 및 48시간 후에 여러 세포주에 대해 4개의 이펙터:표적 비(4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1)에서 이들 CART 세포의 세포독성을 평가하였다. Ramos는 공격적인 B-세포 림프종 세포주이고(도 13), K562는 낮은 CD84 발현을 갖는 급성 골수성 백혈병 세포주인 반면(도 14), MOLM-13은 중간 정도의 CD84 발현을 갖는 급성 골수성 백혈병 세포주이다(도 15). NALM-6은 B-세포 급성 림프모구성 백혈병 세포주이고(도 16), MOLT-4는 T-세포 급성 림프모구성 백혈병 세포주이다(도 17).

[0418] 2:1 비에 대해 나타낸 바와 같이(도 11), 선택된 CAR은 UT 세포와 비교하여 각각의 이펙터:표적 비에 대해 Ramos 세포에 대해 통계적으로 유의한 세포독성 활성을 나타내었다(도 13). K562의 경우, 도 12에 제시된 동일한 패턴이 관찰되었으며, 152-1D5 및 153-4D9 항체에 기반한 CAR은 UT 세포와 비교하여 통계적으로 유의한 세포독성 활성을 나타내었다(도 14).

[0419] 선택된 모든 CAR은 MOLM-13에 대한 세포독성 활성을 나타내었고, 152.1D5 및 153.4D9에 기반한 CAR은 R3-G7 및 R3-H3 항체에 기반한 것보다 더 높은 세포독성 효과를 나타내었다(도 15).

[0420] 152.1D5 및 153.4D9 항체에 기반한 CAR은 R3-G7 및 R3-H3 scFv에 기반한 CAR보다 NALM-6 세포주에 대해 더 높은 세포독성 활성을 나타내었다(도 16). MOLT-4 세포주의 경우, 152-1D5 항체에 기반한 CAR이 UT 세포와 비교하여 가장 높은 통계적으로 유의한 세포독성 활성을 나타내었고, 그 다음이 153-4D9 및 R3-G7 항체에 기반한 CAR이었다(도 17).

[0421] **실시예 6: 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에서 CD84 발현**

[0422] 본 발명자들은 유세포 분석에 의해 PBMC의 상이한 세포 집단에서 CD84 발현을 평가하였고, 이전에 기재된 것과 유사한 결과를 얻었다. 단핵구는 Ramos 세포주에서 관찰된 것과 유사한 높은 CD84 발현을 나타낸다. B 세포는 중간 정도의 CD84 발현을 나타낸다. CD4 및 CD8 T 세포 둘 모두는 양성 집단에서 중간 정도의 CD84 발현 수준을 가지며, CD84 발현과 관련하여 2개의 별개의 하위집단(양성 및 음성)을 갖는다(도 18).

[0423] **실시예 7: PBMC에 대한 CD84 CART 시험관내 세포독성**

[0424] 본 발명자들은 PBMC에 대한 CD84 CART의 세포독성 활성을 평가하였다. 각 실험을 위해, 이펙터 세포(즉, CART84 세포) 및 표적 세포(PBMC) 둘 모두를 동일한 공여자로부터 수득하였다. 3명의 상이한 공여자에 대한 3회의 독립적인 실험의 평균이 제시되어 있다. CART 세포는 자체 PBMC에 대해 통계적으로 유의한 세포독성 활성을 나타내지 않았다. 그러나, 이러한 CART 세포는 병행 실험에서 Ramos 세포에 대해 통계적으로 유의한 세포독성 활성을 나타내었다(도 19).

[0425] **실시예 8: 실시예 1 내지 20에 대한 방법**

[0426] **마우스 모노클로날 항-CD84 항체의 생성**

[0427] BALB/c 마우스를 3주 간격으로 3 내지 4회 면역화시키고, 300.19 세포를 CD84 전장 DNA로 안정적으로 트랜스펙션시켰다(de la Fuente MA *et al*. CD84 leukocyte antigen is a new member of the Ig superfamily. Blood. 1997; 15;90(6):2398-405). 첫 번째 복강내(i.p.) 주사는 300 μl PBS 중 20 x 10^6개 세포로 구성되었고, 두 번째는 300 μl PBS 중 20 x 10^6개 세포로 구성되었으며, 최종 주사는 300 μl PBS 중 30 x 10^6개 세포로 구성되었다. 마우스를 최종 부스트 3일 후에 안락사시키고 비장 세포를 수확하여 세포 융합을 수행하였다.

[0428] NS1 골수종 세포(European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK)를 비장 세포와 융합시키기 위해 이들을 37℃에서 4:1(비장 세포:NS1)의 비로 인큐베이션하고, 실온에서 10분 동안 원심분리하고, 1 mL의 따뜻한 PEG 용액을 끊임없이 소용돌이를 만들면서 세포 펠렛에 첨가하였다. 세포를 RPMI 배양 배지에 천천히 재현탁시키고, 원심분리하고, 가습된 인큐베이터에서 5% CO_2에서 37℃로 인큐베이션하였다.

[0429] 스크리닝은 트랜스펙션되지 않은 300.19 세포를 음성 대조군으로 사용하여 300.19-CD84 세포로 유세포 분석에 의해 50 μl의 하이브리도마 상청액을 분석함으로써 융합 10일 후에 수행되었다. 300.19-CD84에 대해 양성 및 300.19 세포에 대해 음성으로 시험된 하이브리도마를 24-웰 플레이트로 옮기고, 컨플루언트까지 성장시킨 다음,

T75 플라스크로 옮겼다. 이후, 관심 항체를 생산하는 단일 하이브리도마 클론을 제한 희석에 의해 분리하였다. 각각의 하이브리도마에 대해, 10개의 단일 클론을 300.19-CD84 세포로 유세포 분석에 의해 재시험하였다. 양성 클론 중 하나로 클로닝 프로토콜을 반복하였다.

[0430] 각각의 항체에 대해, 항체가 첨가된 항-IgG 코팅된 플레이트를 사용하여 ELISA에 의해 아이소형(클래스 및 서브클래스)을 결정한 다음 플레이트를 항-마우스 HRP 항체와 함께 인큐베이션하였다. 2개의 CD84 세포외 도메인 중 어느 것이 항체에 의해 인식되는지 결정하기 위해, 도메인 1(D1) 및 2(D2) 서열이 인간 또는 뮤린인 키메라 CD84 세포외 도메인을 발현하는 COS 세포로 유세포 분석을 수행하였다.

[0431] **완전한 인간 항-CD84 scFv의 확인**

[0432] 포유동물 세포에 의해 생산된 인간 CD84(SDS-PAGE로 확인됨; 도 20)를 항원으로 사용하여 높은 다양성의 5.37 x 10^{10}개 scFv 변이체를 갖는 인간 나이브 파지 디스플레이 LiAb SFMax 라이브러리(Proteogenix, France)의 패닝을 수행하였다.

[0433] 바이오패닝 라운드의 경우, 튜브를 항원으로 코팅하고, 차단하고, 세척하고, 파지 라이브러리와 함께 인큐베이션하였다. 세척 후, 파지 결합제의 용리를 글리신 HCl로 수행한 후 중화시켰다.

[0434] 용리된 파지의 농도를 결정하기 위해, 이를 E. 콜리(*E. coli*) TG1 세포에 첨가한 다음 플레이트에 붓고 거꾸로 배양하였다. PFU(플라크-형성 단위)의 계산은 플레이트의 플라크(즉, 죽은 TG1) 수를 기반으로 하였다.

[0435] 용리된 파지를 증폭시키기 위해, 이들을 E. 콜리 TG1 세포에 첨가한 다음 헬퍼 파지 및 배양에 의해 감염시켰다. 파지 침전을 PEG/NaCl로 수행한 후 재현탁시키고, 증폭된 파지를 ELISA 분석의 다음 바이오패닝 라운드에 사용하였다.

[0436] 이 분석은 라운드에 걸쳐 유의한 농축을 보여주었고(표 12), 라운드 3 출력은 이미 우수한 농축을 나타내었으므로, 파지 다양성의 감소를 방지하기 위해 추가적인 바이오패닝 라운드는 없었다.

[0437] **표 12.** 용리된 파지의 농도

라운드	항원 농도	세척 횟수	파지 양 (pfu)	
			입력	출력
1	50 µg/mL	5	$2x10^{12}$	$2.5x10^{5}$
2	50 µg/mL	5	$2x10^{12}$	$4.5x10^{6}$
3	50 µg/mL	5	$2x10^{12}$	$9x10^{7}$

[0438]

[0439] 라운드 3의 파지를 모노클로날 ELISA 분석을 위해 선택하였다. 단일 E. 콜리 TG1 클론을 선택하고 헬퍼 파지와 함께 배양하였다. 원심분리 후, 파지를 함유하는 상청액을 수집하였다.

[0440] 플레이트를 항원 또는 완충제로 코팅하고, 세척하고, 차단하고, 다시 세척하였다. 이후, 파지를 플레이트에 첨가하고 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척한 다음 항-파지 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP) 항체를 첨가한 다음, TMB에 이어 HCl에 의해 세척하고 인큐베이션하였다. 플레이트를 450 nm에서 판독하였다.

[0441] 양성 클론의 시퀀싱 후, 3개의 상이한 고유한 서열이 확인되었다. 이후, 확인된 3개의 고유한 클론을 ELISA에 의해 재시험하여 클론 특이성을 보장하였다. 모든 파지를 동일한 농도에서 시험하였다. 플레이트를 항원(Ag) 또는 완충제(NC)로 덮었다. 결과는 3개의 클론이 CD84 항원에 특이적으로 결합한다는 것을 분명히 확인시켜 주었다(표 13).

[0442] **표 13.** 양성 클론의 ELISA

클론 ID	Ag[1]	NC[2]
R3-B3	0.5060	0.0240
R3-G7	2.397	0.0220
R3-H3	0.696	0.0170

[0443]

[0444] **공여자, 세포주**

[0445] 건강한 공여자 혈액 백혈구연층은 참조 혈액 은행 Banc de Sang i Teixits, Barcelona(스페인)로부터 입수하였다.

[0446] Ramos, Raji, NALM6, K562, MOLM-13, Kasumi-6, THP-1, 및 U937은 American Type Culture Collection(ATCC)에서 구입하였다. Ramos, Raji, NALM6, K562, NS1 및 THP-1 세포주를 10% 우태아 혈청(FBS, Merck) 및 페니실린-스트렙토마이신(Labclinics)이 보충된 RPMI 배지(ThermoFisher)에서 배양하였고, 300.19 세포에도 1% L-글루타민(Gibco) 및 0.1% 2-베타-메르캅토에탄올(Sigma)을 보충하였다. HEK293T 및 COS 세포주를 10% FBS(Merck) 및 페니실린-스트렙토마이신(Labclinics) 및 1% L-글루타민(Gibco)이 보충된 DMEM 배지(Gibco)에서 배양하였다. 모든 세포주를 37℃ 및 5% CO_2에서 성장시켰다.

[0447] **렌티바이러스 생산**

[0448] HEK293-T 세포를 패키징 플라스미드 pRSV-Rev(Addgene, 12253), pMDLg/Prre(Addgene, 12251), 및 외피 플라스미드 pCMV-VSV-G(Addgene, 12259)와 함께 본 발명자들의 전달 벡터 pCCL-EF1α-CD84로 선형 폴리에틸렌이민(PEI, 분자량 25000, Polysciences Inc 23966-1)을 사용하여 트랜스펙션시켰다. 48시간 후에 렌티바이러스 상청액을 수집하고, 제조사의 프로토콜에 따라 LentiX-농축기(Clontech, Takara)로 농축시켰다. 농축된 렌티바이러스를 사용할 때까지 -80℃에서 저장하였다.

[0449] **렌티바이러스 적정**

[0450] 형질도입 단위의 수(TU/mL)를 제한 희석 방법에 의해 결정하였다.

[0451] HEK293T 세포를 형질도입 24시간 전에 시딩하고 바이러스 상청액의 1:10 희석액을 제조하고 8 mg/mL의 폴리브렌(Sigma-Aldrich)이 보충된 DMEM 배지(Gibco)에 첨가하였다. 세포를 48시간 후에 트립신화하고, AffiniPure F(ab')2 단편 염소 항-마우스 면역글로불린 G(IgG) 알로피코시아닌(APC)-컨쥬게이션으로 표지하였다(JacksonImmuno Research Laboratories, 115-136-072). 양성 세포의 2%-20%에 해당하는 희석액을 사용하여 바이러스 역가를 계산하였다.

[0452] **T-세포 형질도입 및 CART 확장**

[0453] RosetteSep™에 의한 Ficoll-Paque™(StemCell의 RosetteSep 인간 T 세포 농축 칵테일)로 밀도 구배 원심분리 동안 T 세포를 전혈로부터 분리하였다. T 세포를 5% AB 인간 혈청(Sigma H4522), 페니실린-스트렙토마이신(ThermoFisher, 100 mg/mL), 및 50 IU/mL의 IL-2(Miltenyi)가 보충된 X-Vivo 15 무혈청 세포 배지(Lonza)에서 배양하였다. 이후, CD3 및 CD28 mAb와 컨쥬게이션된 비드(Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 Gibco, 11131D)를 사용하여 세포를 활성화시켰다. 24시간 후, 이들을 8 ug/mL의 폴리브렌(Sigma-Aldrich)의 존재 하에 렌티바이러스로 형질도입하였다. 실험을 수행하기 전에 6 내지 8일의 확장이 필요하였다.

[0454] **유세포 분석**

[0455] CAR84는 재조합 CD84-His 단백질(R&D, 1855-CD) 및 이차 His Tag APC-컨쥬게이션된 항체(R&D, IC050A) 및 비오틴SP-컨쥬게이션된 AffiniPure F(ab')2-단편 염소-항-마우스 IgG(Jackson ImmunoResearch Laboratories, 115-065-072) 또는 BV421-컨쥬게이션된 스트렙타비딘(BD Horizon, 563259)과 함께 비오틴 SP-컨쥬게이션된 AffiniPure F(ab')2-단편 염소-항-인간 IgG(Jackson ImmunoResearch Laboratories, 109-065-006)로 검출되었다. 인간 단백질에 대한 하기 mAb를 사용하였다: CD3-APC, CD4-PE-Cy7, CD4-Alexa Fluor-488, CD19-PE, CD8-APC-H7, PD-1-PE-Cy7, TIM-3-BB515, CD69-PerCP-Cy™5.5, LAG-3-BV-605, CD62L-FITC, CCR7-PerCP-Cy™5.5, CD84-PE, CD4-PE-Cy™7, CD45RA-APC(Becton Dickinson), CD84-APC 및 CD84-PE(BioLegend). 샘플을 유세포 분석기 BD FACSCanto II(BD Biosciences), HTS를 갖는 LSR II Fortessa 4L(BD), 및 Attune NxT 4L 세포 계산기(ThermoFisher)를 통해 실행하였다. ELISA를 위해 하기 mAb를 사용하였다: 항-마우스 IgG-HRP(염소에서 생산된 항-마우스 IgG-퍼옥시다제 항체, Sigma, cat: A3673-1ML) 및 항-마우스 IgG 코팅(염소에서 생산된 항-마우스 IgG 항체(sigma, cat: M2650-1ML). 데이터는 FlowJo Software 10.7.1을 사용하여 분석되었다.

[0456] **시험관내 세포독성 검정**

[0457] CART 세포의 세포독성을 상이한 이펙터:표적 비를 사용하여 상이한 시점에서 평가하였다. 이러한 검정에 사용된 표적 세포를 렌티바이러스 벡터로 변형시켜 이전에 기재된 바와 같이 GFP-반딧불이 루시퍼라제(GFP-ffLuc)를 과발현시켰다(Shah *et al*. Antigen Presenting Cell-Mediated Expansion of Human Umbilical Cord Blood Yields Log-Scale Expansion of Natural Killer Cells with Anti-Myeloma Activity. PLoS One. 2013; 8(10)).

[0458] 남아있는 살아있는 GFP^+ 종양 세포의 백분율을 유세포 분석에 의해 분석하고 하기 공식을 사용하여 계산하였다:

살아있는 세포의 % = 100 x (시간 x에 T 세포를 갖는 GFP^+ 세포의 수/시간 x에 GFP^+ 세포 단독의 수).

[0459] **시험관내 증식 검정**

[0460] CD84 항원에 반응하는 CART84 세포 증식은 CFSE 검정을 사용하여 측정되었다(Castella, M. *et al*. (2019) Mol. Ther. - Methods Clin. Dev. 12: 134-144). CART 세포를 CellTrace CFSE(Invitrogen, ThermoFisher, 15598431)로 염색한 후 자극의 존재 또는 부재 하에 96시간 동안 공동-배양하였다. 증식을 유세포 분석에 의해 분석하고 증식 지수(PI)를 계산하였다(PI = 상이한 세대의 세포 수의 합 / 세포의 수).

[0461] **시험관내 사이토카인 생산**

[0462] IFN-γ, TNF-α, IL-6, IL-1β 사이토카인을 제조사의 프로토콜에 따라 효소-결합 면역흡착 검정(DuoSet ELISA, R&D systems)에 의해 정량화하였다.

[0463] 상기 명세서에 언급된 모든 간행물은 본원에 참조로 포함된다. 본 발명의 개시된 항원-결합 도메인, 항체, 키메라 항원 수용체, 용도 및 방법의 다양한 수정 및 변형은 본 발명의 범위 및 사상을 벗어나지 않고 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명은 특정 바람직한 구체예와 관련하여 기재되었으나, 청구된 바와 같은 본 발명은 상기 특정 구체예로 부당하게 제한되지 않아야 함이 이해되어야 한다. 실제로, 당업자에게 명백한 본 발명을 수행하기 위한 개시된 모드의 다양한 변형은 하기 청구범위의 범위 내에 있는 것으로 의도된다.

[0464] **실시예 9: CD84 CAR 조작**

[0465] 본 발명자들은 항체 GYCD84.1-7, GYCD84.1-226 및 GYCD84.3-89를 기반으로 하여 여러 항-CD84 CAR 작제물을 조작하였다. 완전한 CAR84 서열을 신호 펩티드, CD84에 특이적인 scFv, CD8α 힌지 및 막횡단 영역, 공동-자극 도메인 4-1BB 및 신호전달 도메인 CD3-ζ를 포함하는 3세대 렌티바이러스 벡터 pCCL(Dull *et al*. A Third-Generation Lentivirus Vector with a Conditional Packaging System. J. Virol. 1998:72:8463-8471)로, EF1α 프로모터의 제어 하에 클로닝하였다(도 6).

[0466] VH 및 VL 서열의 순서가 상이한, 항체 GYCD84.1-7에 기반한 2개의 상이한 scFv를 설계하였다. 이러한 모든 CAR은 4개의(S4) 모티프(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)를 갖는 링커를 함유한다. 각 CAR 버전에 부여된 이름은 scFv의 설계를 반영한다. pCCL 벡터에서 합성되고 클로닝된 상이한 scFv 도메인의 서열은 표 14에 열거되어 있다.

[0467] **표 14.** 설계된 각각의 CD84 CAR에서 사용되는 scFv 도메인의 서열 및 구조.

CAR 명칭	항체/ scFv	첫 번째 도메인	링커	두 번째 도메인
1.7.3 (VLS4VH)	GYCD84. 1-7	**VL:** DIQMTQSPASLSA SVGETVTITCRAS ENIFSSLAWYQQR QGKSPQLLVYNAK TLAEGVPSRFSGS GSGTQFSLKINSL QPEDFGSYYCQHH YATPFTFGSGTKL EIK (SEQ ID NO: 75)	GGGGSGGGG SGGGGSGGG GS (SEQ ID NO: 111)	**VH:** QVTLKESGPGILQPSQTLSLT CSFSGFSLSTSGMGVGWIRQP SGKGLEWLAHIWWDDVKRYNP ALKSRLTISKDTSSSQVFLKI ASVDTADTATYYCARMRTSYY FDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 74)
1.7.5 (VHS4VL)	GYCD84. 1-7	**VH:** QVTLKESGPGILQ PSQTLSLTCSFSG FSLSTSGMGVGWI RQPSGKGLEWLAH IWWDDVKRYNPAL KSRLTISKDTSSS QVFLKIASVDTAD TATYYCARMRTSY YFDYWGQGTTLTV SS (SEQ ID NO: 74)	GGGGSGGGG SGGGGSGGG GS (SEQ ID NO: 111)	**VL:** DIQMTQSPASLSASVGETVTI TCRASENIFSSLAWYQQRQGK SPQLLVYNAKTLAEGVPSRFS GSGSGTQFSLKINSLQPEDFG SYYCQHHYATPFTFGSGTKLE IK (SEQ ID NO: 75)
1.226.5 (VHS4VL)	GYCD84. 1-226	**VH:** QVQLQQPGAELVK PGTSVKLSCKASG YNFTRYWINWVKL RPGQGLEWIGDIY PGSGSTNYNEKFK SKATLTVDTSSST AYMQLSRLASEDS ALYYCARDTTIAY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 82)	GGGGSGGGG SGGGGSGGG GS (SEQ ID NO: 111)	**VL:** DIVLTQSPTSLAVSLGQRATI SCRASQSVTTSRYSYMHWYQQ KPGQPPKLLIKFASNLESGVP ARFSGSGSGTDFTLNIHPVEE EDTATYYCQHSWEIPYTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO: 83)
3.89.5 (VHS4VL)	GYCD84. 3-89	**VH:** EVKLLESGGGLVQ PGGSLKLSCAASG FGFSRSWMSWVRQ APGKGLEWIGEIN PDSSTINYTPSLK DKFIISRDNAKNT LFLQMSKVRSEDT ALYYCATFYDGYS IYWYFDVWGAGTT VTVSS (SEQ ID NO: 163)	GGGGSGGGG SGGGGSGGG GS (SEQ ID NO: 111)	**VL:** DVLMTQTPLSLPVSLGDQASI SCRSSQSIVHSNGDTYLEWYL QKPGQSPKLLIYKVSNRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYYCFQGSHVPRTFGG GTKLEIK (SEQ ID NO: 164)

[0468]

[0469] **실시예 10: 혈액 악성종양에서 CD84의 발현**

[0470] 본 발명자들은 유세포 분석에 의해 AML 또는 T-ALL로 진단된 환자로부터의 백혈병 세포의 표면에서 CD84의 발현을 분석하였다. 표 15 및 16은 각각 AML 및 T-ALL 세포에 대한 CD84 발현의 정성적 평가를 요약한다. AML 샘플의 일차 백혈병 세포의 유세포 분석의 두 가지 대표적인 예가 도 5에 도시되어 있다. T-ALL 샘플(환자 01 및 환자 02)의 분석은 도 21에 도시되어 있다.

[0471] **표 15.** 유세포 분석에 의해 평가된 AML 환자 16명의 백혈병 세포에서 CD84의 발현.

환자 번호	CD84 발현
P11	중간
P12	높음
P13	중간
P14	높음
P15	중간
P16	중간
P17	높음
P18	중간
P19	낮음
P20	중간
P21	중간
P22	낮음
P23	높음
P24	높음
P25	높음
P26	높음

[0472]

[0473] **표 16.** 유세포 분석에 의해 평가된 T-ALL 환자 2명의 백혈병 세포에서 CD84의 발현.

환자 번호	CD84 발현
P01	높음
P02	높음

[0474]

[0475] **실시예 11: CD84 CART 생산**

[0476] CART84 1.7.3, 1.226.5 및 3.89.5 pCCL-EF1α-CD84 벡터를 함유하는 렌티바이러스(LV)를 HEK293-T 세포에서 생산하고, mL 당 형질도입 유닛의 수를 제한 희석 방법에 의해 결정하였다. 렌티바이러스를 사용하여 전혈로부터 분리된 T 세포를 형질도입한 다음, 이러한 CAR-T 세포를 6 내지 8일 동안 확장시켰다.

[0477] 표 17은 3회의 상이한 형질도입 후 수득된 T 세포의 수 뿐만 아니라 이들의 표면에서 CD84 CAR을 발현한 T 세포의 백분율을 요약한다.

[0478] **표 17.** CD84 CAR을 발현하는 렌티바이러스로 형질도입 후 6-7일에 수득된 CAR-양성 T 세포의 수 및 백분율. 3회의 독립적인 형질도입으로부터의 데이터가 제시된다.

	형질도입 #1		형질도입 #2		형질도입 #3	
	세포 수	% CAR	세포 수	% CAR	세포 수	% CAR
UT	20.7 x10^6	0%	20.9 x10^6	0%	7.1 x10^6	0%
1.7.3	12.2 x10^6	61.9%	13.6 x10^6	75.7%	8.2 x10^6	98.5%
1.226.5	14.6 x10^6	74.9%	7.2 x10^6	85.7%	8.2 x10^6	94.8%
3.89.5	13.1 x10^6	58%	10.3 x10^6	64.1%	23.6 x10^6	80.8%

[0479]

[0480] 형질도입 후 6-7일 동안 CART84 1.7.3, 1.226.5 및 3.89.5의 확장 뿐만 아니라 152.3, 153.5 및 H3.5의 확장에 대한 추가 분석이 도 22에 제시되어 있으며, 0일에 T 세포의 수에 비해 증가 배수로 표시된다.

[0481] **실시예 12: CD84 CART 시험관내 세포독성**

[0482] Ramos, K562, MOLM-13, NALM6 및 MOLT-4 세포에 대해 수득된 세포독성 결과에 기초하여, CART84 152.3, 153.5 및 H3.5를 추가 특성화를 위해 선택하고 1.7.3 및 1.226.5 및 3.89.5와 비교하였다. 본 발명자들은 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적 세포 비에서 세포계산법에 의해 살아있는 GFP-양성 세포의 백분율을 결정함으로써 24시간 또는 48시간 공동-배양 후 Ramos, MOLM-13, U937 및 MOLT-4 세포에 대한 세포독성을 평가하였다. 이들 세포에서의 CD84 발현은 도 3에 도시되어 있다.

[0483] 모든 CART84는 Ramos 세포($CD84^{high}$)에 대해 높은 세포독성 효과를 나타내었고, 이는 UT와 비교하여 통계적으로 유의하였다(도 23). 모든 CART 세포에 대해 시간이 지남에 따라 세포독성 효과가 증가하였다; 그러나, 이러한

효과는 H3.5 및 1.226.5의 경우, 특히 더 낮은 비(1:1 및 0.5:1)에서 더 낮았다.

[0484] MOLM-13($CD84^{moderate}$) 및 U937($CD84^{low}$) AML 세포의 경우, CART84 152.3, 153.5, 1.7.3, 1.226.5 및 3.89.5는 UT와 비교하여 통계적으로 유의한 높은 세포독성 효과를 나타내었다(각각 도 24 및 25). CART84 H3.5는 둘 모두의 세포주로부터의 백혈병 세포에 대해 다른 CART 세포보다 낮은 세포독성 활성을 나타내었다. 세포독성 효과는 모든 CART에 대해 시간이 지남에 따라 증가하였다. H3.5를 제외한 모든 CART 세포는 낮은 CD84 발현에도 불구하고 U937 세포에 대해 높은 세포독성을 나타내었다.

[0485] 마지막으로, 본 발명자들은 MOLT-4 세포($CD84^{high}$)에 대한 CART84 152.3, 153.5, 1.7.5, 1.226.5 및 3.89.5의 세포독성을 평가하였고, U937 세포에서 보여진 동일한 패턴을 관찰하였으며, 즉, H3.5를 제외한 모든 CART 세포는 시간이 지남에 따라 증가하는 높은 세포독성 효과를 나타내었고, 이는 UT와 비교하여 통계적으로 유의하였다(도 26).

[0486] **실시예 13: AML 및 T-ALL로부터의 일차 백혈병 모세포에 대한 CD84 CART 시험관내 세포독성**

[0487] 본 발명자들은 Haematology Department of Hospital Clinic de Barcelona(HCB)로부터 수득된 환자 샘플로부터의 일차 AML 세포에 대한 CART84 세포 152.3, 153.5, G7.5 및 H.3.5의 세포독성을 평가하였다. CD84 발현을 일차 모세포에서 평가한 후, 이를 CFSE로 염색하고 24시간 및 48시간 동안 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1의 이펙터:표적 세포 비로 이펙터 세포(CART/UT)와 공동-배양하였다. 이 기간 후, 세포를 LIVE/Dead™ Fixable Aqua로 염색하여 살아있는/죽은 세포를 구별하였다. CART 세포 152.3 및 153.5는 AML 모세포에 대해 가장 높은 세포독성 활성을 나타내었고, 이는 UT의 효과와 비교하여 통계적으로 유의하였다. CART H3.5 및 G7.5는 낮은 세포독성 효과를 나타내었다. 모든 CART에 의해 유도된 세포독성 효과는 시간이 지남에 따라 증가하였다(도 27).

[0488] 본 발명자들은 또한 Haematology Department of Hospital Clinic de Barcelona(HCB)로부터 수득된 일차 T-ALL 환자 샘플에 대한 CART84 세포 152.3, 153.5, 1.7.3, 1.226.5 및 3.89.5의 세포독성을 평가하였다. AML 샘플에 대해 상기 기재된 바와 같이 실험을 수행하였다. CART 152.3, 153.5 및 1.7.3의 세포독성은 CART 1.226.5 및 3.89.5의 세포독성보다 높았다(도 28).

[0489] **실시예 14: CD84 CART 시험관내 사이토카인 생산**

[0490] 사이토카인을 방출하는 각 CART 세포의 능력을 평가하기 위해, 이펙터-표적 세포 공동-배양물의 상청액을 수집하였다. Ramos, MOLM-13 및 MOLT-4를 표적 세포로서 2:1 이펙터:표적 세포 비로 사용하였다. 상청액에서 IFN-γ(도 29), 그랜자임-B(도 30) 및 TNF-α(도 31)의 수준은 공동-배양 24시간 후 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA)에 의해 결정되었다. 형질도입되지 않은 T 세포(UT)를 음성 대조군으로 사용하였다(표적 세포와의 공동-배양으로). 4회의 독립적인 실험을 수행하였다. IFN-γ 및 그랜자임 B는 세포독성 사이토카인인 반면, TNF-α는 전염증성 사이토카인이다. CART84 H3.5는 Ramos와 공동-배양될 때 시험된 모든 CART84 중 가장 높은 사이토카인 생산을 나타내었다. CART84 1.7.3의 사이토카인 프로파일은 MOLM-13 및 MOLT-4 세포와 공동-배양된 후 H3.5의 것과 유사하였다. 시험된 모든 다른 CART 세포는 유사한 수준의 사이토카인을 생산하였다. 이러한 결과는 H3.5 및 1.7.3 CART 세포 둘 모두가 긴장성 신호전달, 즉, 리간드의 부재 하에 구성적 또는 만성 활성화를 가질 수 있음을 시사한다.

[0491] **실시예 15: CD84 CART 시험관내 증식**

[0492] 항원 CD84 결합시 특이적으로 증식하는 각각의 CART84 세포의 능력을 평가하기 위해, CFSE 증식 검정을 수행하였다. 간략하게, 0일에 CART 세포를 CellTrace™ CFSE로 염색하였다. 4개의 조건을 시험하였다: 0일에 세포(UT 또는 CART 세포); 4일에 배지로만 배양된 세포; 4일에 IL-2(50 UI/mL)의 비특이적 자극으로 자극된 세포; 및 4일에 특정 항원, 즉, MOLM-13 세포로 0.5:1의 이펙터:표적 비로 자극된 세포. 본 발명자들은 CART84 152.3, 153.5 및 1.226.5가 배지 단독 또는 IL-2와 함께 인큐베이션될 때보다 CD84 항원에 노출될 때 더 많이 증식함을 입증할 수 있었다(도 32). 한편, CART H3.5, 1.7.3 및 3.89.5는 MOLM-13 또는 IL-2 자극으로 자극될 때 유사하게 증식하였고, 따라서 이러한 CART84가 긴장성 신호전달을 나타낼 수 있음을 시사한다.

[0493] **실시예 16: 조혈 전구 줄기 세포에 대한 CD84 CART 시험관내 세포독성**

[0494] CD84는 여러 혈액 악성종양으로부터의 악성 세포에서 발현된다. 이들 중에 AML이 있으며, 여기서 CD84 발현은 골수성 백혈병 모세포와, 낮은 정도로, 조혈 전구 줄기 세포(HPSC) 사이에 공유된다. CD33 및 CD123도 마찬가지이며, 둘 모두는 AML 치료를 위해 개발 중인 CART 제품에 대한 표적이다. 도 33은 성분채집술 생성물로부터의

HPSC에 대한 CD84, CD33 및 CD123의 발현을 보여준다.

[0495] CART84의 잠재적인 골수독성을 평가하기 위해, HPSC에 대한 이들의 세포독성을 2개의 상이한 공급원으로부터 수득된 $CD34^+$ HPSC에서 조사하였다: 제대혈 단위(CBU, BST로부터) 및 동종이계 줄기 세포 이식을 위해 G-CSF로 동원된 건강한 공여자로부터의 성분채집술 생성물(또한 BST로부터). 성분채집술 생성물로부터의 $CD34^+$ 세포는 골수독성을 연구하기 위한 이상적인 모델을 나타낸다; 그러나, 이러한 유형의 온-타겟/오프-종양 독성을 연구하기 위해 CBU로부터의 $CD34^+$ 세포를 사용하는 것이 더 일반적이다

[0496] CBU로부터 정제된 $CD34^+$ 세포를 4:1 및 2:1의 이펙터:표적 세포 비로 CART84 152.3, 153.5, 1.7.3, 1.229 및 3.89.5와 함께 24시간 동안 공동-배양하였다. CART84 152.3, 153.5, 1.7.3 및 1.226.5는 CBU로부터의 $CD34^+$ 세포에 대해 낮거나 중간 정도의 세포독성 활성을 나타내었고, CART84 3.89.5의 활성이 가장 높았다. 도 34는 5회의 독립적인 실험의 결과를 요약한다.

[0497] 성분채집술 생성물로부터의 $CD34^+$ HPSC에 대한 세포독성 검정을 위해, 3명의 상이한 공여자 백혈구연층을 사용하여 CART84를 생성하였다. 놀랍게도, 이들 세포에 대한 CART84의 세포독성은 비교적 낮았다. CART 세포독성은 48시간 후에 증가하였지만, UT의 경우도 증가했으며 이는 비특이적이다(도 35).

[0498] **실시예 17: CD84 CART 시험관내 T-세포 독성**

[0499] CD84는 T 세포에서 발현되기 때문에, 본 발명자들은 이들에 대한 잠재적인 CART84 독성을 연구하였다. T 세포를 공여자 전혈로부터 직접 분리하였다; 이 중 절반을 활성화하고 형질도입하여 CART 세포를 생성하고, 나머지 절반을 CART 세포가 이용 가능할 때까지(즉, 6-7일 동안) 동결보존하였다. T 세포를 CFSE로 염색한 다음, CART84와 공동-배양하였다. 도 36은 5회의 독립적인 실험의 결과를 보여준다. CART84 152.3, 153.5, 1.7.3 및 3.89.5는 자체 T 세포에 대해 중간 정도의 세포독성 효과를 나타내었다. 반면, 1.226.5에 의해 유도된 세포독성 활성은 UT와 비교하여 낮았고 통계적으로 유의하지 않았다.

[0500] 어떤 특정 T-세포 분획이 CART84에 의해 표적화되었는지 추가로 이해하기 위해, 하기 T-세포 서브세트에 대한 효과를 분석하였다: 나이브, 중심-기억, 이펙터-기억, 및 이펙터 CD4/CD8 T 세포. 상이한 T-세포 하위집단을 1) 검정 전 표적 T 세포 및 2) 도 37에 나타낸 바와 같이 상이한 CART84와의 공동-배양 후 생존 T 세포에 대해 유세포 분석에 의해 연구하였다. 본 발명자들은 CD84가 대부분 기억 T 세포에서 발현되기 때문에 예상대로 중심-기억 T 세포 분획이 CART84, 특히 152.3, 153.5 및 1.7.3에 의해 가장 큰 영향을 받는 것을 관찰하였다. 또한, 모든 T-세포 서브세트는 CART84와의 공동-배양 후에도 여전히 존재하였다.

[0501] **실시예 18: AML 모델에서 항-CD84 CART의 생체내 효능**

[0502] 여러 CART84 세포의 효능을 GFP-반딧불이 루시퍼라제(GFPffLuc)를 발현하도록 변형된 MOLM-13 AML 세포를 사용하여 NOD scid 감마(NSG) 면역결핍 마우스에서 3회의 상이한 실험에서 시험하였다. 최고의 시험관내 효능 및 안전성 프로파일을 갖는 CART84를 생체내 시험을 위해 선택하였다: 152.3, 153.5, H3.5, 1.7.3 및 1.226.5.

[0503] 첫 번째 및 두 번째 실험에서, 1 x 10^6개 또는 0.25 x 10^6개 MOLM-13 GFP-ffLuc 세포를 각각 0일에 NSG 마우스에 정맥내(i.v.) 주사하였다(도 38 및 39). 6일 후, 4 x 10^6 내지 5 x 10^6개의 UT, CART84 세포 152.3, 153.5, H3.5 또는 1.7.3을 마우스에 i.v. 주사하였다. CART 152.3, 153.5 및 1.7.3으로 처리된 마우스는 UT로 처리된 마우스와 비교하여 생존에서 통계적으로 유의한 증가를 가졌다.

[0504] 도 40에 도시된 실험에서, 1 x 10^5개의 MOLM-13 GFP-ffLuc 세포를 0일에 i.v. 주사하고, 2일 및 11일 후에 UT, CART 152.3, 153.5 및 1.226.5를 각각 5 x 10^6개 및 3 x 10^6개 세포의 용량으로 주사하였다. CART 152.3 및 153.5는 생물발광에 의해 모니터링시 종양 진행을 제어하였고, 이는 UT로 처리된 마우스와 비교하여 통계적으로 유의하였다. 또한, CART 152.3 및 153.5로 처리된 마우스는 UT로 처리된 마우스와 비교하여 통계적으로 유의하게 증가된 생존을 가졌다.

[0505] 실험 종료시 안락사된 마우스의 골수 및 비장을 수집하고, 종양 세포(MOLM-13-GFPffLuc), 인간 $CD3^+$ T 세포 또는 CART 세포의 존재를 정량화하기 위해 유세포 분석에 의해 분석하였다. 둘 모두의 실험에서, CART84-처리된 마우스는 UT-처리된 마우스와 비교할 때 골수 및 비장 둘 모두에서 유의하게 더 적은 종양 세포 수를 가졌다(도

39C 및 40C). 인간 T 세포는 UT로 처리된 마우스의 골수 및 비장 둘 모두에서 증식하였는데, 이는 아마도 이종-이식편 대 숙주 질환(xeno-GvHD) 때문일 것이다(도 39D 및 40D). CART84 세포는 골수 및 비장 둘 모두에서 발견되었으며, CART84 152.3의 경우에 가장 두드러졌다(도 39E 및 40E).

[0506] 요약하면, 152.3 및 153.5는 처리된 동물의 AML 질병 진행 및 증가된 생존을 일관되게 제어할 수 있었다.

[0507] **실시예 19: T-ALL 모델에서 CART84의 생체내 효능**

[0508] CART84 세포의 효능을 GFP-ffLuc를 발현하도록 변형된 MOLT-4 T-ALL 세포를 사용하여 NOD scid 감마(NSG) 마우스에서 2개의 상이한 실험에서 시험하였다. 하기 CART84를 시험하였다: 152.3, 153.5, 1.7.3 및 1.226.5.

[0509] 도 41에 제시된 실험에서, 0.75 x 10^6개의 MOLT-4 GFP-ffLuc 세포를 0일에 NSG 마우스에 i.v. 주사하였고; 5일 후, 3 x 10^6개의 CART 또는 UT를 i.v. 주사하였다. CART84 152.3은 생물발광에 의해 모니터링시 UT로 처리된 마우스와 비교하여 통계적으로 유의한 방식으로 종양 진행을 제어하였다. 또한, CART 152.3 및 153.5로 처리된 마우스는 UT로 처리된 마우스와 비교하여 통계적으로 유의하게 증가된 생존을 가졌다.

[0510] 도 42에 제시된 실험에서, 4 x 10^5개의 MOLT-4 GFP-ffLuc 세포를 0일에 및 5 x 10^6개의 CART 또는 UT를 2일 후에 i.v. 주사하였다. CART84 152.3 및 153.5를 이용한 처리는 생물발광에 의해 모니터링된 종양 진행의 제어 및 UT와 비교하여 증가된 생존 둘 모두의 측면에서 통계적으로 유의한 효능을 도출하였다.

[0511] 실험 종료시 안락사된 마우스의 골수 및 비장을 종양 세포(MOLT-4), 인간 $CD3^+$ T 세포 및 CART 세포의 존재를 정량화하기 위해 유세포 분석에 의해 분석하였다. 이 경우, 상이한 그룹으로부터의 동물의 골수 및 비장에서 발견된 종양 세포의 수에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다(도 42C). 인간 T 세포는 UT로 처리된 마우스에서 골수 및 비장 둘 모두에서 증식하였는데, 이는 아마도 xeno-GvHD 때문일 것이다(도 42D). CART 세포는 골수 및 비장 둘 모두에서, 특히 152.3 세포의 경우에 발견되었다(도 42E).

[0512] CART84 152.3 및 153.5는 둘 모두의 T-ALL 실험에서 T-ALL 질환을 제어하고 생존을 연장시키는 측면에서 가장 효과적이었다.

[0513] **실시예 20: 인간 일차 세포에 대한 CD84 CART 시험관내 독성**

[0514] 잠재적인 온-타겟/오프-종양 독성을 평가하기 위해, 인간 일차 세포를 CD84 발현 및 그 후, CART84에 의해 유도된 잠재적인 세포독성 효과에 대해 연구하였다. 하기 인간 세포가 연구되었다: 인간 관상 동맥 내피 세포(HCAEC), 인간 소기도 상피 세포(HsaEpC), 인간 심장 근육세포(HCM), 인간 신장 상피 세포(HREpC) 및 인간 자궁 섬유모세포(HUF). 유세포 분석을 사용하여, 본 발명자들은 CD84가 이들 세포의 표면에서 발현되지 않음을 입증할 수 있었다(도 43).

[0515] XCELLigence 검정에서, 본 발명자들은 CART84 152.3 및 153.5가 HsaEpC, HCM, HREpC 또는 HUF에 대해 세포독성이 아님을 발견하였다. 그러나, CD84 발현의 부족에도 불구하고, HCAEC에 대해 일부 세포독성 효과가 관찰되었으며, 이는 이러한 효과가 항원-특이적이지 않다는 것을 시사한다. 이를 확인하기 위해, 본 발명자들은 CART84의 세포독성 활성을 CD123을 표적화하는 CART의 세포독성 활성과 비교하였는데, 그 이유는 이 항원이 내피 세포의 표면에서 발현되기 때문이다. CD123-지정 CART 세포에 의해 유도된 세포독성은 CART84 152.3 또는 153.5에 의해 유도된 것보다 유의하게 더 높았다(도 44).

[0516] **실시예 21: 실시예 9 내지 20에 대한 방법**

[0517] **CD123 CAR 조작**

[0518] 본 발명자들은 US 2014/0271582로부터의 IL3scfv-IgG4(L235E)-CD28gg-제타(**26292**) CAR에 기반하여 항-CD123 CAR 작제물을 조작하였다. CAR 서열을 신호 펩티드(GMCSFR 알파), 26292 scFv(VH-링커-VL), IgG4-Fc 힌지 및 CD28-막횡단 영역, 공동-자극 도메인 CD28 및 신호전달 도메인 CD3-ζ를 포함하는 3세대 렌티바이러스 벡터 pCCL(Dull *et al*. A Third-Generation Lentivirus Vector with a Conditional Packaging System. J. Virol. 1998: 72:8463-8471)로, EF1α 프로모터의 제어 하에 클로닝하였다.

[0519] **유세포 분석**

[0520] T 세포의 양성 CAR 분획을 비오틴-SP(긴 스페이서) AffiniPure 염소 항-마우스 IgG, $F(ab')_2$ 단편 염소-항-마우스 IgG(Jackson ImmunoResearch) 또는 비오틴 SP-컨쥬게이션된 AffiniPure F(ab')2-단편 염소-항-인간

IgG(Jackson ImmunoResearch)로 검출하고, 세척한 다음 BV421/PE-컨쥬게이션된 스트렙타비딘(eBioscience) 및 하기 기재된 바와 같이 단백질의 각 패널을 연구하는데 필요한 항체와 함께 인큐베이션하였다.

[0521] 인간 단백질에 대한 하기 mAb를 사용하여 CAR T-세포 표현형을 연구하였다: CD197-BV510(CCR7), CD62L-FITC, CD4-Pecy7, CD8-APCH7, CD45RA-APC, (Becton Dickinson).

[0522] 인간 단백질에 대한 하기 mAb를 사용하여 AML/T-ALL 샘플에 존재하는 상이한 집단 세포를 연구하였다: CD11-APC, CD19-Fitc, HLA-DR-A450, CD45-PerCPCy5.5, CD34-PerCPCy5.5, CD3-APC, CD3-APCH7, CD33-Fitc, CD14-Fitc, CD14-APCH7, CD13-PE, CD13-BV421(Becton Dickinson), CD84-APC, CD84-PE(BioLegend), CD45-A750, CD117-PeCy7(Beckman Coulter), CD123-PECy7(eBiosciences).

[0523] 인간 단백질에 대한 하기 mAb를 사용하여 말초 혈액에 존재하는 단핵 세포의 상이한 집단을 연구하였다: CD3-BV421, CD14-APCH7, CD19-FITC, CD33-APC, CD34-PerCPCy5.5, CD38-APC, CD84-PE(BioLegend), CD123-PECy7(eBiosciences) 및 HLA-DR-BV450(Becton Dickinson)

[0524] 단백질에 대한 하기 mAb를 MOLM-13 모델에서 수행된 생체내 실험에 사용하였다: 항-인간 CD3-APCH7, 항-인간 CD33-APC, 항-인간 CD45-PerCP-Cy5.5, 항-마우스 CD45-PECy7, 스트렙타비딘-BV421(Becton Dickinson). 단백질에 대한 하기 mAb를 MOLM-4 모델에서 수행된 생체내 실험에 사용하였다: 항-인간 CD3-APC, 항-인간 CD45-PerCP-Cy5.5, 항-마우스 CD45 Pe-Cy7, 스트렙타비딘-BV421(Becton Dickinson).

[0525] 모든 샘플을 BD FACSCanto™ II, LSRFortessa™ 4L(DB Biosciences) 또는 Attune™ NxT(Invitrogen) 유세포 분석기를 통해 실행하고 FlowJo v10.8. 0 소프트웨어(BD Biosciences)로 분석하였다.

[0526] **AML 및 T-ALL 환자로부터의 일차 백혈병 모세포에 대한 시험관내 세포독성 검정**

[0527] 일차 모세포를 CFSE(ThermoFisher)로 염색하고, 24시간 및 48시간 동안 이펙터:표적 세포 비 4:1, 2:1, 1:1 및 0.5:1로 이펙터 세포(CART/UT)와 공동-배양하였다. 이 기간 후, 공동-배양된 세포를 LIVE/Dead™ Fixable Aqua(ThermoFisher)로 염색하여 살아있는/죽은 세포를 구별하였다. 남아있는 살아있는 모세포의 백분율을 유세포 분석에 의해 결정하고 하기 공식을 사용하여 계산하였다: 살아있는 세포의 % = 100 x (시간 x에 CART 세포를 갖는 음성 LIVE/Dead-양성 CFSE 세포의 수 / 시간 x에 음성 LIVE/Dead-양성 CFSE 세포 단독의 수).

[0528] **$CD34^+$ 세포의 분리**

[0529] 조혈 전구 줄기 세포($CD34^+$)를 2개의 공급원으로부터 입수하였다: 제대혈 유닛(CBU, 혈액 은행 Banc de Sang i Teixits de Barcelona, BST) 및 동종이계 줄기 세포 이식을 위해 G-CSF로 동원된 건강한 공여자로부터의 성분채집술 생성물(또한 BST로부터 입수됨).

[0530] $CD34^+$ 세포를 먼저, Ficoll-Paque 밀도-구배 원심분리 및 두 번째로, 인간 CD34-MicroBead 키트(Miltenyi Biotec, 양성 선택)로 자성 분리에 의해 $CD34^+$ 조혈 전구체 줄기 세포를 정제함으로써 CBU로부터 분리하였다. 성분채집술 생성물로부터 $CD34^+$ 세포를 분리하기 위해, 세포를 CD34-자성 비드로 직접 정제하였다.

[0531] **$CD34^+$ 세포에 대한 시험관내 세포독성 검정**

[0532] $CD34^+$ 세포에 대한 CD84 CART 세포독성을 평가하기 위해, $CD34^+$ 세포를 24시간 및 48시간 동안 이펙터:표적 세포 비 4:1, 2:1로 이펙터 세포(CART/UT)와 공동-배양하였다. 이 기간 후, 공동-배양된 세포를 APC-컨쥬게이션된 CD3 및 PE-컨쥬게이션된 CD34 항체로 염색하여 표적 세포로부터 이펙터를 구별하고 LIVE/Dead Fixable Aqua로 염색하여 살아있는/죽은 세포를 구별하였다.

[0533] **정제된 T 세포에 대한 시험관내 세포독성 검정**

[0534] Ficoll-Paque 밀도-구배 원심분리 동안 RosetteSep™로부터의 면역-세포 분리 시약을 사용하여 공여자 백혈구연층으로부터 T 세포를 분리하였다. 이 과정에서 얻은 T 세포의 절반을 활성화하고 형질도입하여 CART 세포를 생성하고, 나머지 절반을 동결보존하여 CART 세포가 이용 가능할 때까지(즉, 8일 동안) 표적 세포로서 사용하였다. 세포독성 검정을 수행하기 위해, T 세포를 해동하고 CFSE로 염색한 후 상이한 이펙터:표적 비로 CART 세포와 공동-배양하였다. 24시간 후, 이펙터 및 표적 세포 둘 모두를 고정시키고 LIV/Dead Fixable Aqua 세포 염색 키트로 염색하였다.

[0535] 남아있는 살아있는 T 세포의 백분율을 유세포 분석에 의해 결정하고 하기 공식을 사용하여 계산하였다: 살아있는 세포의 % = 100 x (시간 x에 CART 세포를 갖는 음성 LIVE/Dead-양성 CFSE 세포의 수 / 시간 x에 음성 LIVE/Dead-양성 CFSE 세포 단독의 수).

[0536] 남아있는 살아있는 T-세포 서브세트를 연구하기 위해, 이들을 또한 유세포 분석 섹션에 설명된 바와 같이 표현형 패널로부터의 인간 mAb로 염색하였다.

[0537] **생체내 효능 검정**

[0538] 8주 내지 12주령의 비-비만 당뇨병-Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ(NSG) 마우스(Charles River)를 Faculty of Medicine and Health Sciences of University of Barcelona의 동물 시설에서 병원체-비함유 조건 하에 사육하고 수용하였다. 0.1 내지 1 x 10^6개의 GFPffLuc-발현 MOLM-13 또는 GFPffLuc-MOLT-4 세포를 염수에 재현탁시키고 0일에 각 NSG 마우스에 정맥내(IV) 주입하였다. 3 내지 5 x 10^6개의 UT 또는 CD84 CART를 종양-세포 주입 2 내지 9일 후에 정맥내(i.v.) 주입하였다. Xenogen IVIS 50 Imaging System(PerkinElmer)을 사용하여 생물발광에 의해 종양 진행을 모니터링하였다. 생물발광을 측정하기 위해, 100uL의 XenoLight D-루시페린(Perkin Elmer Ref. 122799)을 각 마우스에 복강내 투여하고, 종양 부하를 매주 모니터링하였다. Living Image 소프트웨어(PerkinElmer)를 사용하여 총 발광 플럭스를 시각화하고 계산하였다. 인도적 종말점 기준의 징후를 나타낼 때 마우스를 안락사시켰다. 골수 및 비장을 추출하고 유세포 분석에 의해 분석하여 종양 세포, T 세포 및 CART 세포의 존재를 정량화하였다.

[0539] 모든 절차는 Faculty of Medicine and Health Sciences of University of Barcelona의 기관 동물 관리 위원회에 따라 수행되었다.

[0540] **일차 인간 세포**

[0541] 하기 일차 인간 세포를 PromoCell로부터 획득하였다: 인간 관상 동맥 내피 세포(HCAEC), 인간 소기도 상피 세포(HSAEpC), 인간 자궁 섬유모세포(HUF), 인간 심장 근육세포(HCM) 및 인간 신장 상피 세포(HREpC). 세포를 데이터 시트에 표시된 바와 같이 특정 배지 및 보충물(또한 PromoCells로부터)과 함께 37℃ 및 5% CO_2에서 배양하였다.

[0542] **부착 세포를 이용한 시험관내 세포독성 검정**

[0543] 부착 세포에 대한 CART 세포독성을 평가하기 위해, 임피던스에 의해 살아있는 세포 증식의 실시간 측정을 가능하게 하는 xCELLigence 기기를 사용하였다. 표적 세포를 xCELLigence에 대한 RTCA E-플레이트(16웰)에 시딩하고, xCELLigence RTCA 다중 플레이트 모니터링 시스템을 사용하여 24시간 동안 세포 지수를 모니터링하였다. 이 시점에, 100 mL의 성장 배지 또는 T 세포(4:1 이펙터:표적 비의 형질도입되지 않은 T 세포 또는 CART 세포)를 각 웰에 첨가하였다. 각 웰로부터 획득된 데이터(세포 지수)를 1로 표준화하고 72시간 동안 세포 성장을 모니터링하였다. 데이터를 xCELLigence RTCA Software Lite 2.0.0.1301을 사용하여 분석하였다.

[0544] **실시예 22: B-세포 림프종 모델에서 CART84의 생체내 효능**

[0545] 여러 CART84 세포의 효능을 GFP-ffLuc를 발현하도록 변형된 Ramos(버킷 림프종) 세포를 사용하여 NOD scid 감마(NSG) 마우스에서의 생체내 실험으로 시험하였다. 하기 CART84를 시험하였다: 152.3, 153.5 및 H3.5.

[0546] 도 45에 제시된 실험에서, 4 x 10^5개의 Ramos GFP-ffLuc 세포를 0일에 NSG 마우스에 i.v. 주사하였다. 2일 후, 5 x 10^6개의 CART 또는 UT 세포를 i.v. 주사하였다. CART 152.3, 153.5 및 H3.5로 처리된 마우스는 더 느린 성장의 경향을 나타내었다(도 45A). 실험 종료시 안락사된 마우스의 골수를 수집하고 종양 세포의 존재를 정량화하기 위해 유세포 분석에 의해 분석하였다. CART84-처리된 마우스는 UT-처리된 마우스와 비교할 때 골수에서 통계적으로 유의하게 더 적은 수의 라모스 GFP-ffLuc 세포를 가졌다(도 45B).

[0547] **구체예**

[0548] 본 발명의 다양한 특징 및 구체예는 이제 하기 넘버링된 단락을 참조하여 설명될 것이다:

[0549] 1. 다음을 포함하는 항원-결합 도메인:

[0550] a) 서열: CDR1 - NYWIN(SEQ ID NO: 1); CDR2 - DIYPVSGTTNYNEKFKR(SEQ ID NO: 2); 및 CDR3 - GTGRFAY(SEQ ID NO: 3); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보

성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0551] 서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 4); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 5); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 6); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0552] b) 서열: CDR1 - NYWLG(SEQ ID NO: 7); CDR2 - DIYPGGGYTNYIEKFKG(SEQ ID NO: 8); 및 CDR3 - YEGGYYGNYDAMDY(SEQ ID NO: 9), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0553] 서열: CDR1 - RASESVDNYGISFMN(SEQ ID NO: 10); CDR2 - AASNQGS(SEQ ID NO: 11); 및 CDR3 - QQSKAVPRT(SEQ ID NO: 12), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0554] c) 서열: CDR1 - GFTFSSYA(SEQ ID NO: 13); CDR2 - ISGSGGST(SEQ ID NO: 14); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 15), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0555] 서열: CDR1 - NIESKD(SEQ ID NO: 16); CDR2 - DDA(SEQ ID NO: 17); 및 CDR3 - QVWDSSSDHVV(SEQ ID NO: 18), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0556] d) 서열: CDR1 - GFTFSSYP(SEQ ID NO: 19); CDR2 - ISYHGRNK(SEQ ID NO: 20); 및 CDR3 - ARDRDATPGGTGVGNHGMAV(SEQ ID NO: 21), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0557] 서열: CDR1 - QSLLHSSGYNY(SEQ ID NO: 22); CDR2 - MGS(SEQ ID NO: 23); 및 CDR3 - MQGLQTPPT(SEQ ID NO: 24), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0558] e) 서열: CDR1 - GFTFSDNA(SEQ ID NO: 25); CDR2 - ISGTGRTT(SEQ ID NO: 26); 및 CDR3 - AKWDCSDGRCYWAY(SEQ ID NO: 27), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0559] 서열: CDR1 - QSLVYSDGDTY(SEQ ID NO: 28); CDR2 - KVS(SEQ ID NO: 29); 및 CDR3 - MQGTHWPPNT(SEQ ID NO: 30); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0560] f) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 31); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 32); 및 CDR3 - MRTSYYFDY(SEQ ID NO: 33), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0561] 서열: CDR1 - RASENIFSSLA(SEQ ID NO: 34); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 35); 및 CDR3 - QHHYATPFT(SEQ ID NO: 36), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0562] g) 서열: CDR1 - SYWIN(SEQ ID NO: 37); CDR2 - DIYLGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 38); 및 CDR3 - SGGYLGY(SEQ ID NO: 39), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0563] 서열: CDR1 - RASQSVSTSSYSYMH(SEQ ID NO: 40); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 41); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 42); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0564] h) 서열: CDR1 - NYWIG(SEQ ID NO: 43); CDR2 - DIYPGGGYTNYNENFKG(SEQ ID NO: 44); 및 CDR3 - STTYYSSYWCFDV(SEQ ID NO: 45), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0565] 서열: CDR1 - KSSQSLLNSGNQANYLA(SEQ ID NO: 46); CDR2 - GASTRES(SEQ ID NO: 47); 및 CDR3 - QNDHSYPFT(SEQ

ID NO: 48), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0566] i) 서열: CDR1 - RYWMS(SEQ ID NO: 49); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 50); 및 CDR3 - PGPTVVATYWYFDV(SEQ ID NO: 51); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0567] 서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGNTYLE(SEQ ID NO: 52); CDR2 - KVSSRFS(SEQ ID NO: 53); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 54); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0568] j) 서열: CDR1 - RYWIN(SEQ ID NO: 55); CDR2 - DIYPGSGSTNYNEKFKS(SEQ ID NO: 56); 및 CDR3 - DTTIAY(SEQ ID NO: 57), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0569] 서열: CDR1 - RASQSVTTSRYSYMH(SEQ ID NO: 58); CDR2 - FASNLES(SEQ ID NO: 59); 및 CDR3 - QHSWEIPYT(SEQ ID NO: 60); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0570] k) 서열: CDR1 - GYNMN(SEQ ID NO: 131); CDR2 - NIDPYYGGTNYNQKFKG(SEQ ID NO: 132); 및 CDR3 - GLLSGSFPY(SEQ ID NO: 133), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0571] 서열: CDR1 - RASENIYSYLA(SEQ ID NO: 134); CDR2 - NAKTLAE(SEQ ID NO: 135); 및 CDR3 - QHHYGSPLT(SEQ ID NO: 136), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0572] l) 서열: CDR1 - RSWMS(SEQ ID NO: 137); CDR2 - EINPDSSTINYTPSLKD(SEQ ID NO: 138); 및 CDR3 - FYDGYSIYWYFDV(SEQ ID NO: 139); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0573] 서열: CDR1 - RSSQSIVHSNGDTYLE(SEQ ID NO: 140); CDR2 - KVSNRFS(SEQ ID NO: 141); 및 CDR3 - FQGSHVPRT(SEQ ID NO: 142); 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0574] m) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 143); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALRS(SEQ ID NO: 144); 및 CDR3 - IAVTYFFDF(SEQ ID NO: 145), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0575] 서열: CDR1 - RASENIFSSFA(SEQ ID NO: 146); CDR2 - NARTLAE(SEQ ID NO: 147); 및 CDR3 - QHHYASPFT(SEQ ID NO: 148), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL);

[0576] n) 서열: CDR1 - TSGMGVG(SEQ ID NO: 149); CDR2 - HIWWDDVKRYNPALKS(SEQ ID NO: 150); 및 CDR3 - MSTSYYFDY(SEQ ID NO: 151), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0577] 서열: CDR1 - KASQSLFTSVA(SEQ ID NO: 152); CDR2 - SASYRYT(SEQ ID NO: 153); 및 CDR3 - QQHYSSPFT(SEQ ID NO: 154), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL); 또는

[0578] o) 서열: CDR1 - IYAMN(SEQ ID NO: 155); CDR2 - RIRSKSNNYARFYADSVKD(SEQ ID NO: 156); 및 CDR3 - PLRSYFSMDY(SEQ ID NO: 157), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 상보성 결정 영역(CDR)을 갖는 중쇄 가변 영역(VH); 및

[0579] 서열: CDR1 - KASENVDTYVS(SEQ ID NO: 158); CDR2 - GASNRYT(SEQ ID NO: 159); 및 CDR3 - GQTYSYPWT(SEQ ID NO: 160), 또는 각각 최대 3개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실을 갖는 이의 변이체를 갖는 CDR을 갖는 경쇄 가변 영역(VL).

[0580] 2. 단락 1에 있어서, 항원-결합 도메인이 다음을 포함하는 항원-결합 도메인:

[0581] a) SEQ ID NO: 61의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 62 또는 108의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0582] b) SEQ ID NO: 63의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 64 또는 109의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0583] c) SEQ ID NO: 65의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 66의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0584] d) SEQ ID NO: 68의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 69의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0585] e) SEQ ID NO: 71의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 72의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0586] f) SEQ ID NO: 74의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 75의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0587] g) SEQ ID NO: 76의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 77의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0588] h) SEQ ID NO: 78의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 79의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0589] i) SEQ ID NO: 80의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 81의 서열을 갖는 VL 도메인; 또는

[0590] j) SEQ ID NO: 82의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 83의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0591] k) SEQ ID NO: 161의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 162의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0592] l) SEQ ID NO: 163의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 164의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0593] m) SEQ ID NO: 165의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 166의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0594] n) SEQ ID NO: 167의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 168의 서열을 갖는 VL 도메인; 또는

[0595] o) SEQ ID NO: 169의 서열을 갖는 VH 도메인; 및 SEQ ID NO: 170의 서열을 갖는 VL 도메인;

[0596] 또는 각각이 이와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체.

[0597] 3. 단락 1 또는 2의 항원-결합 도메인을 포함하는 항체.

[0598] 4. 단락 1 또는 2의 항원-결합 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)로서, 선택적으로

[0599] a) CAR이 scFv CAR이고/거나;

[0600] b) CAR이 CD8a 막횡단 도메인을 포함하고/거나;

[0601] c) CAR이 4-1BB 또는 CD28 공동-자극 도메인을 포함하고/거나;

[0602] d) CAR이 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함하는, 키메라 항원 수용체(CAR).

[0603] 5. 단락 1 또는 2의 항원-결합 도메인, 단락 3의 항체, 또는 단락 4의 CAR을 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드.

[0604] 6. 단락 5의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

[0605] 7. 단락 5의 폴리뉴클레오티드 또는 단락 6의 벡터를 포함하는 세포.

[0606] 8. 단락 1 또는 2의 항원-결합 도메인, 또는 단락 4의 CAR을 포함하는 세포.

[0607] 9. 제1 CAR 및 제2 CAR을 포함하는 세포로서, 제1 CAR이 단락 4의 CAR이고, 선택적으로 제2 CAR이 항-CD19 CAR, 항-CD20 CAR, 항-CD22 CAR, 항-CD33 CAR, 항-CD123 CAR; 또는 항-CD7 CAR인, 세포.

[0608] 10. 단락 7 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 세포가 T 세포 또는 NK 세포이고, 선택적으로 세포가 자가 또는 동종이계 세포인 세포.

[0609] 11. 단락 1 또는 2의 항원-결합 도메인, 단락 3의 항체, 단락 4의 CAR, 단락 5의 폴리뉴클레오티드, 단락 6의 벡터, 또는 단락 7 내지 10 중 어느 하나의 세포를 포함하는 약학적 조성물.

[0610] 12. 요법에 사용하기 위한 단락 1 또는 2의 항원-결합 도메인, 단락 3의 항체, 단락 4의 CAR, 단락 5의 폴리뉴클레오티드, 단락 6의 벡터, 단락 7 내지 10 중 어느 하나의 세포, 또는 단락 11의 약학적 조성물로서, 선택적으로 상기 요법이 암의 치료인, 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 약학적 조성물.

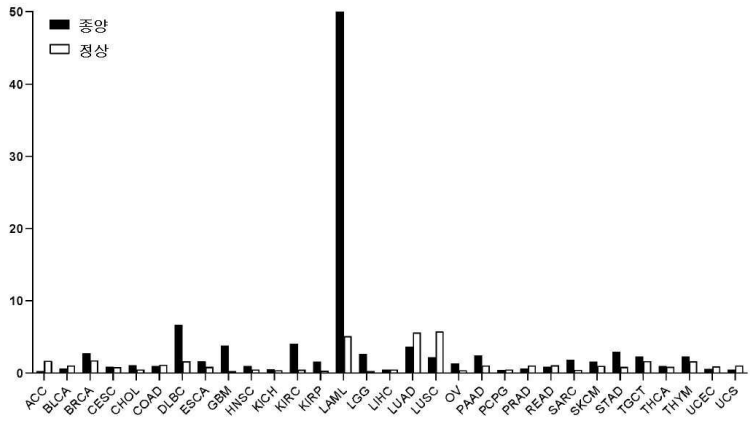
[0611] 13. 단락 12에 있어서, 암이 혈액 악성종양, 선택적으로 CD84-발현 혈액 악성종양이고/거나, 암이 만성 림프구성 백혈병(CLL), B-세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 버킷 림프종, 소포 림프종, 외투 세포 림프종, B-세포 급성 림프모구성 백혈병(B-ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성 증후군, T-세포 급성 림프모구성 백혈병/림프종(T-ALL), 만성 골수증식성 증후군, 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수단구성 백혈병, 수지상-세포 신생물 및 조직구 육종으로 구성된 군으로부터 선택되는 항원-결합 도메인, 항체, CAR, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 약학적 조성물.

[0612] 14. 샘플에서 CD84 발현 수준을 결정하기 위한, 선택적으로 대상체로부터의 샘플에서 CD84 발현 수준을 분석하기 위한 단락 1 또는 2의 항원-결합 도메인, 또는 단락 3의 항체의 용도.

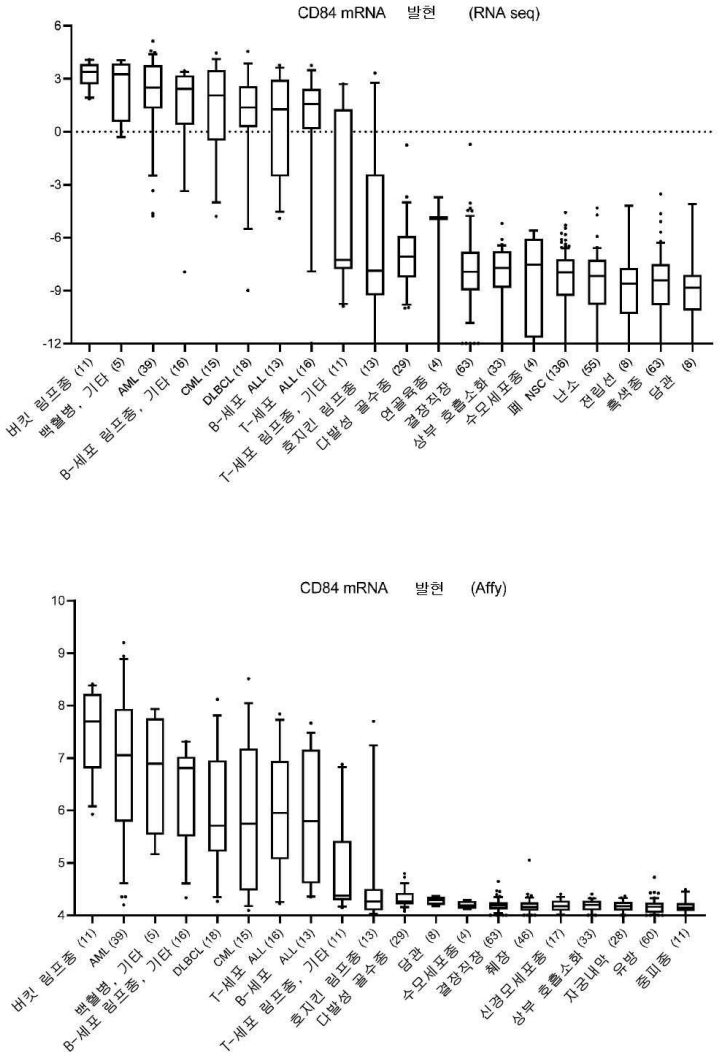
[0613] 15. 항-CD84 CAR 또는 항체로 치료하기에 적합한 대상체를 확인하는 방법으로서, 상기 방법이 대상체로부터 분리된 샘플에서 CD84 발현 수준을 결정하는 단계를 포함하고, 여기서 CD84 발현 수준이 단락 1 또는 2의 항원-결합 도메인, 또는 단락 3의 항체를 사용하여 결정되는, 방법.

도면

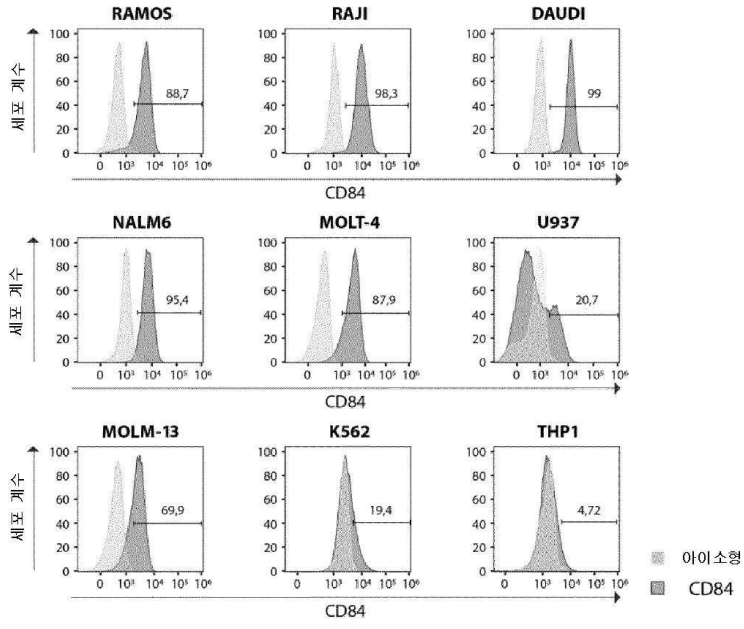
도면1



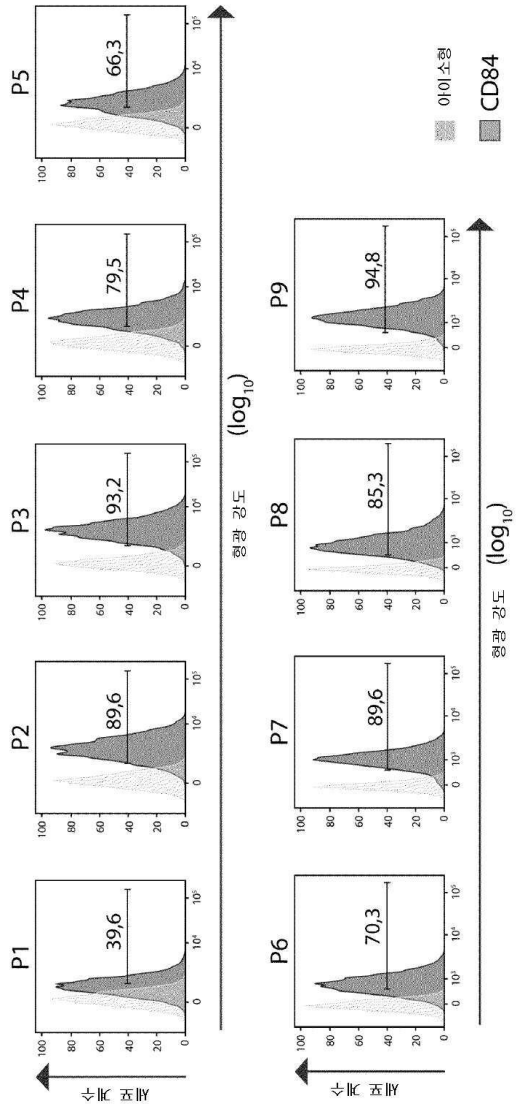
도면2


CD84 mRNA 발현 (RNA seq)
6
3
0
-3
-6
-9
-12
버킷 림프종 (11)
AML (39)
백혈병, 기타 (5)
B-세포 림프종, 기타 (16)
CML (15)
DLBCL (18)
B-세포 ALL (13)
T-세포 ALL (16)
T-세포 림프종, 기타 (11)
호지킨 림프종 (13)
다발성 골수종 (29)
연골육종 (4)
결장직장 (63)
상부 호흡소화 (33)
수모세포종 (4)
폐 NSC (136)
난소 (55)
전립선 (9)
흑색종 (63)
담관 (9)
CD84 mRNA 발현 (Affy)
10
9
8
7
6
5
4
버킷 림프종 (11)
AML (39)
백혈병, 기타 (5)
B-세포 림프종, 기타 (16)
DLBCL (18)
CML (15)
T-세포 ALL (16)
B-세포 ALL (13)
T-세포 림프종, 기타 (11)
호지킨 림프종 (13)
다발성 골수종 (29)
담관 (8)
수모세포종 (4)
결장직장 (63)
췌장 (86)
신경모세포종 (17)
상부 호흡소화 (33)
자궁내막 (28)
유방 (60)
흑피종 (11)

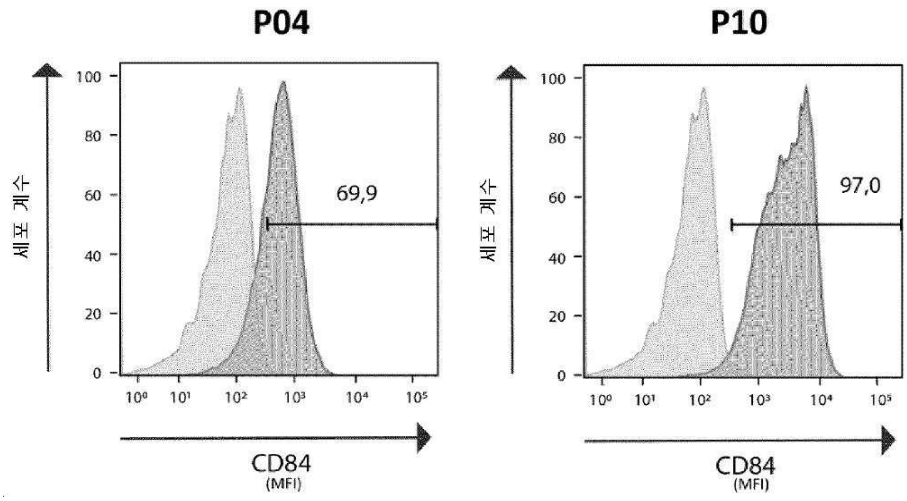
도면3


RAMOS
RAJI
DAUDI
NALM6
MOLT-4
U937
MOLM-13
K562
THP1
세포 계수
CD84
88,7
98,3
99
95,4
87,9
20,7
69,9
19,4
4,72
아이소형
CD84

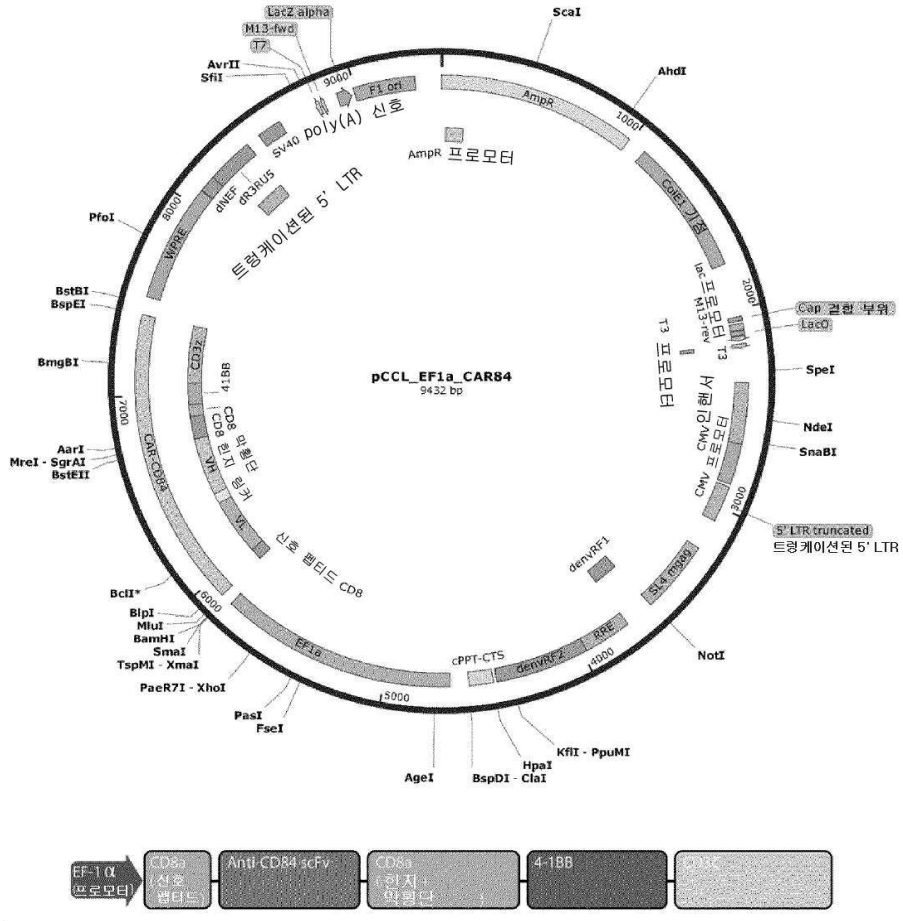
도면4


P1
39,6
P2
89,6
P3
93,2
P4
79,5
P5
66,3
P6
70,3
P7
89,6
P8
85,3
P9
94,8
CD84
아이소형
형광 강도 (log10)
세포 개수

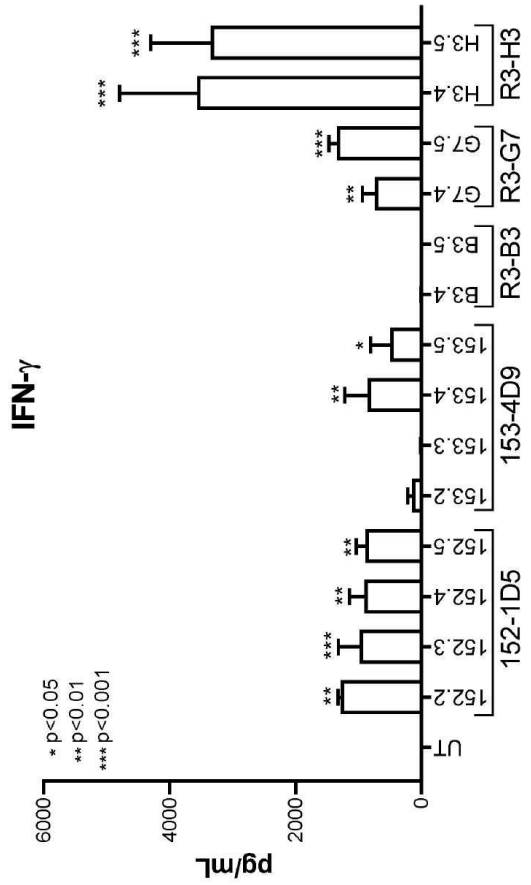
도면5


P04
69,9
P10
97,0
세포 개수
CD84
(MFI)

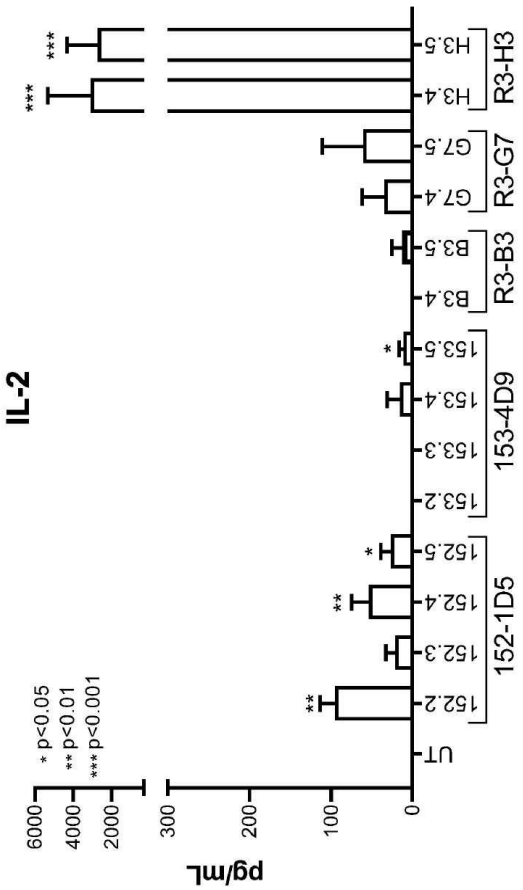
도면6


pCCL_EF1a_CAR84
9432 bp
LatZ alpha
M13-fwd
T7
AvrII
SfiI
F1 ori
SV40 poly(A) 신호
AmpR 프로모터
ScaI
AhdI
AmpR
ColE1 기원
lac 프로모터
M13-rev
T3
T3 프로모터
Cap 결합 부위
LacO
SpeI
NdeI
SnaBI
CMV 인핸서
CMV 프로모터
5' LTR truncated
트렁케이션된 5' LTR
SL4 SD/AA
NotI
RRE
denvRF2
cPPT-CTS
denvRF1
EF-1α
KflI - PpuMI
HpaI
BspDI - ClaI
AgeI
PasI
FseI
PaeR7I - XhoI
TspMI - XmaI
SmaI
BamHI
MluI
BlpI
BclI*
CAR-CD84
VH
CD8 힌지 링커
VL
CD8 막횡단
4-1BB
CD3ζ
신호 펩티드 CD8
BsmBI
BspEI
BstBI
PfoI
WPRE
dNEF
dR3RUS
트렁케이션된 5' LTR
AarI
MreI - SgrAI
BstEII
EF-1α 프로모터
CD8α 신호 펩타...
Anti-CD84 scFv
CD8α 힌지 + 막횡단
4-1BB
CD3ζ

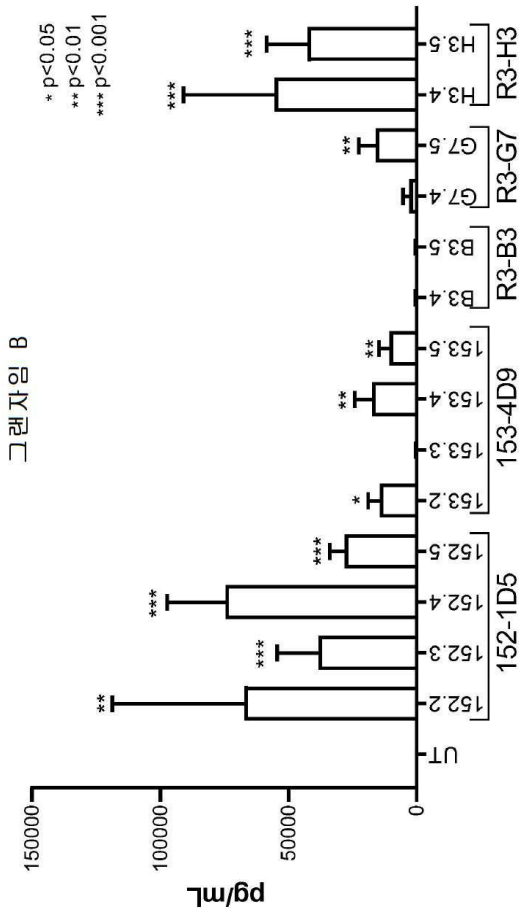
도면7


IFN-γ
pg/mL
6000
4000
2000
0
* p<0.05
** p<0.01
*** p<0.001
UT
152.2
152.3
152.4
152.5
153.2
153.3
153.4
153.5
B3.4
B3.5
G7.4
G7.5
H3.4
H3.5
152-1D5
153-4D9
R3-B3
R3-G7
R3-H3

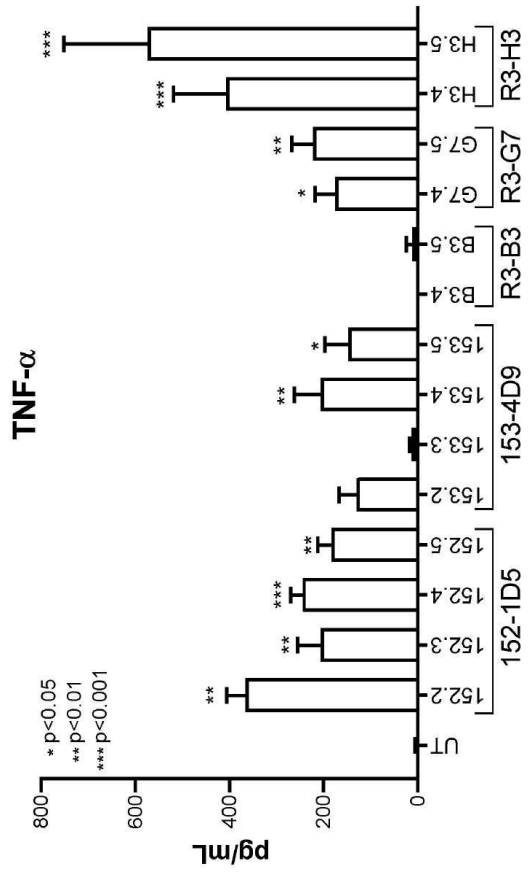
도면8


IL-2
pg/mL
6000
4000
2000
300
200
100
0
* p<0.05
** p<0.01
*** p<0.001
UT
152.2
152.3
152.4
152.5
153.2
153.3
153.4
153.5
B3.4
B3.5
G7.4
G7.5
H3.4
H3.5
152-1D5
153-4D9
R3-B3
R3-G7
R3-H3

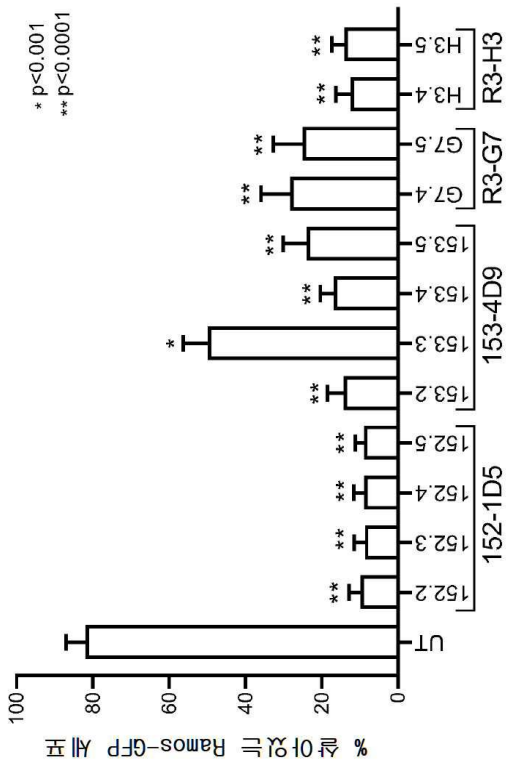
도면9


* p<0.05
** p<0.01
*** p<0.001
그랜자임 B
pg/mL
150000
100000
50000
0
UT
152.2
152.3
152.4
152.5
153.2
153.3
153.4
153.5
B3.4
B3.5
G7.4
G7.5
H3.4
H3.5
152-1D5
153-4D9
R3-B3
R3-G7
R3-H3

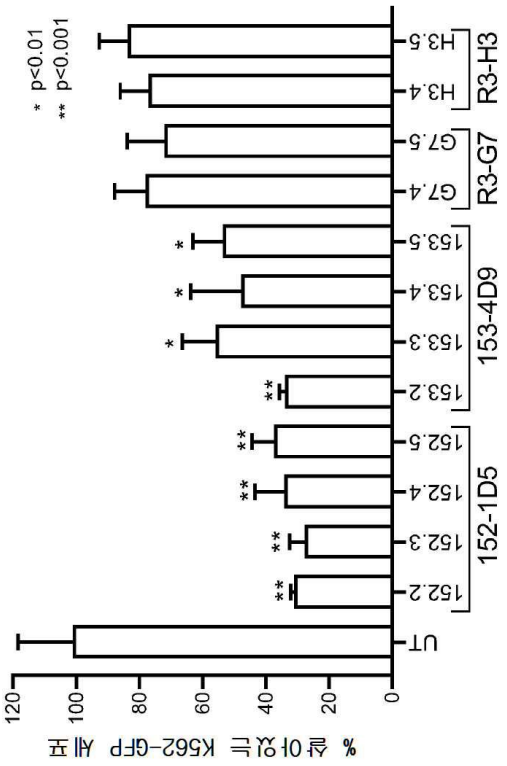
도면10


TNF-α
pg/mL
0
200
400
600
800
* p<0.05
** p<0.01
*** p<0.001
UT
152.2
152.3
152.4
152.5
153.2
153.3
153.4
153.5
B3.4
B3.5
G7.4
G7.5
H3.4
H3.5
152-1D5
153-4D9
R3-B3
R3-G7
R3-H3

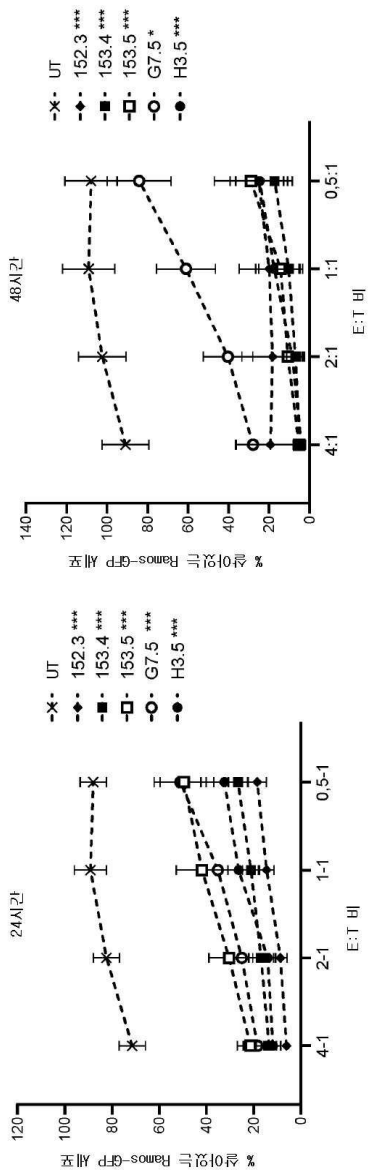
도면11


% 살아있는 Ramos-GFP 세포
0
20
40
60
80
100
* p<0.001
** p<0.0001
UT
152.2
152.3
152.4
152.5
153.2
153.3
153.4
153.5
G7.4
G7.5
H3.4
H3.5
152-1D5
153-4D9
R3-G7
R3-H3

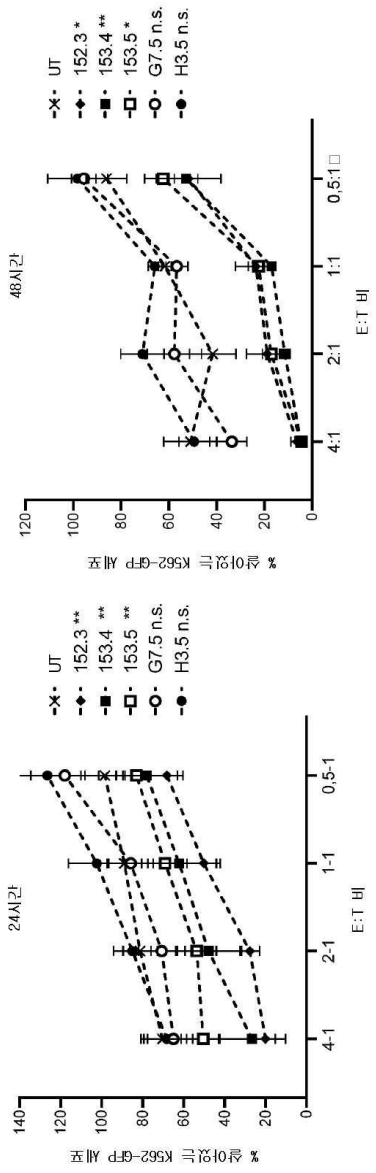
도면12


% 살아있는 K562-GFP 세포
120
100
80
60
40
20
0
UT
152.2
152.3
152.4
152.5
153.2
153.3
153.4
153.5
G7.4
G7.5
H3.4
H3.5
152-1D5
153-4D9
R3-G7
R3-H3
** p<0.001
* p<0.01

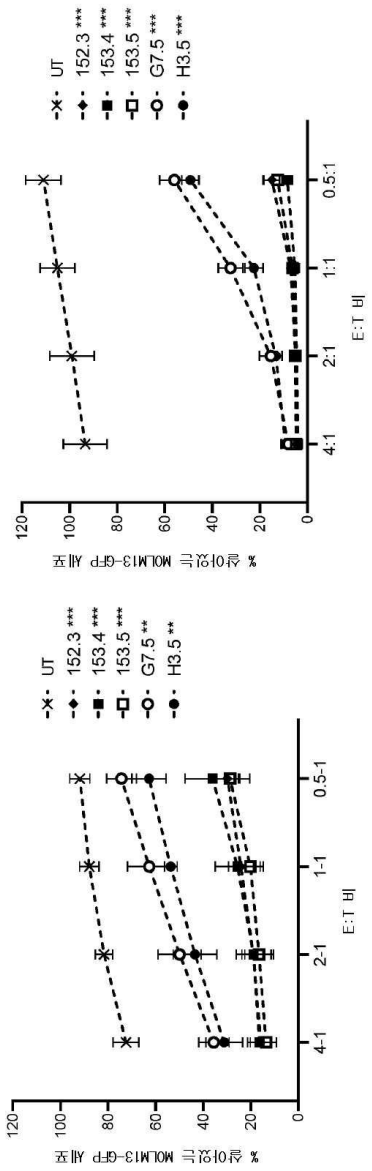
도면13


48시간
% 살아있는 Ramos-GFP 세포
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0,5:1
0
20
40
60
80
100
120
140
UT
152.3 ***
153.4 ***
153.5 ***
G7.5 *
H3.5 ***
24시간
% 살아있는 Ramos-GFP 세포
E:T 비
4-1
2-1
1-1
0,5-1
0
20
40
60
80
100
120
UT
152.3 ***
153.4 ***
153.5 ***
G7.5 ***
H3.5 ***

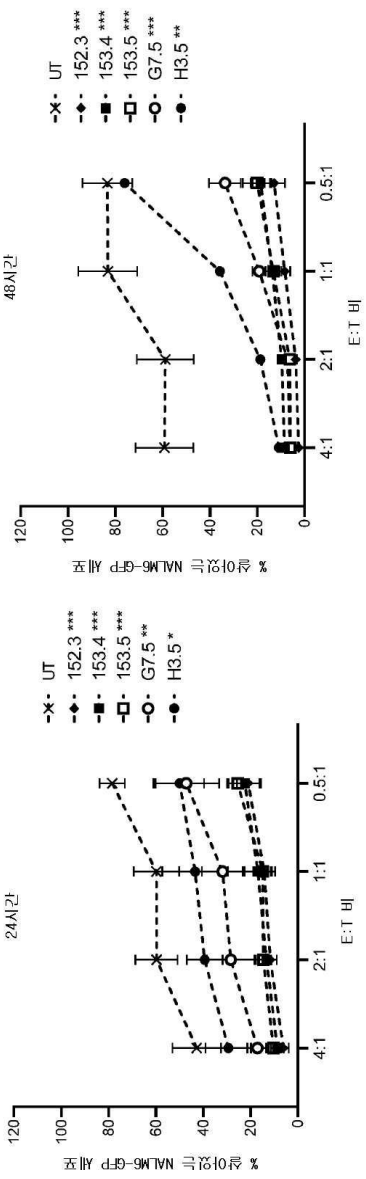
도면14


24시간
48시간
% 살아있는 K562-GFP 세포
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
UT
152.3 **
153.4 **
153.5 **
G7.5 n.s.
H3.5 n.s.

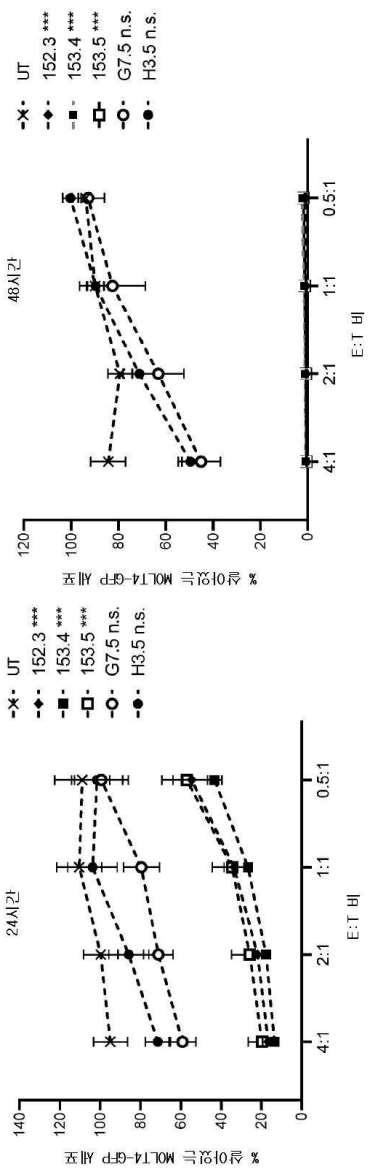
도면15


UT
152.3 ***
153.4 ***
153.5 ***
G7.5 ***
H3.5 ***
% 살아있는 MOLM13-GFP 세포
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
UT
152.3 ***
153.4 ***
153.5 ***
G7.5 **
H3.5 **
% 살아있는 MOLM13-GFP 세포
E:T 비
4-1
2-1
1-1
0.5-1

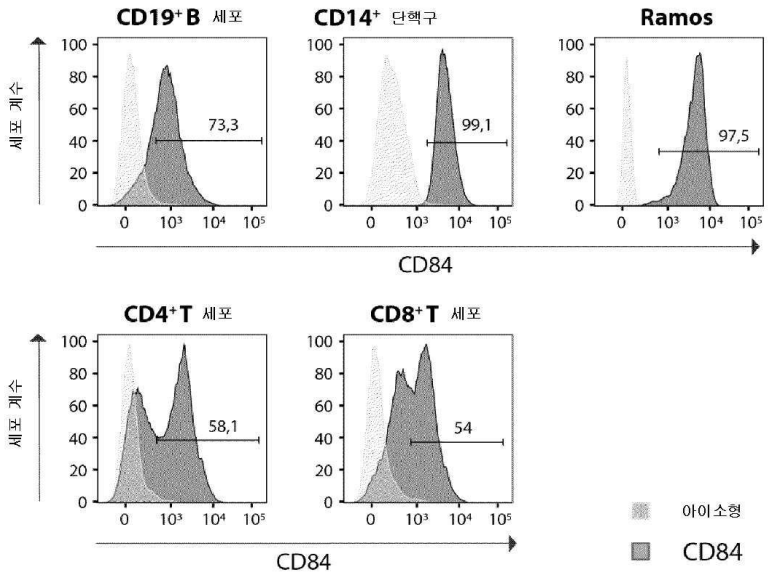
도면16


48시간
% 살아있는 NALM6-GFP 세포
E:T 비
0.5:1
1:1
2:1
4:1
0
20
40
60
80
100
120
UT
152.3 ***
153.4 ***
153.5 ***
G7.5 ***
H3.5 **
24시간
% 살아있는 NALM6-GFP 세포
E:T 비
0.5:1
1:1
2:1
4:1
0
20
40
60
80
100
120
UT
152.3 ***
153.4 ***
153.5 ***
G7.5 **
H3.5 *

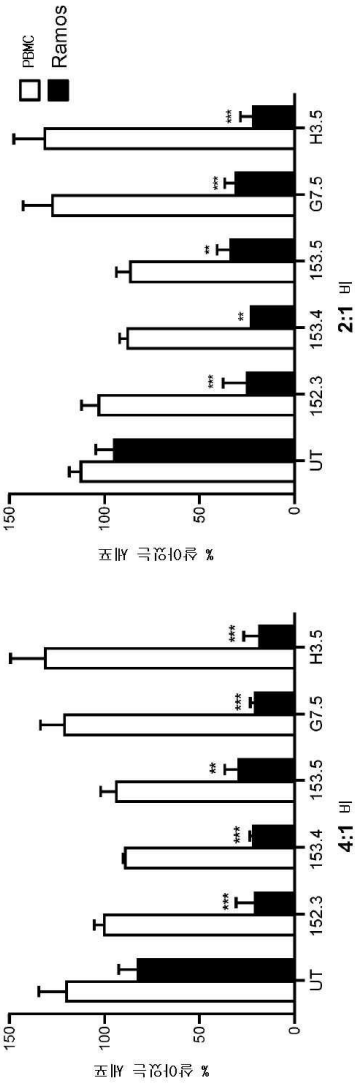
도면17


UT
152.3 ***
153.4 ***
153.5 ***
G7.5 n.s.
H3.5 n.s.
48시간
% 살아있는 MOLT4-GFP 세포
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
0
20
40
60
80
100
120
UT
152.3 ***
153.4 ***
153.5 ***
G7.5 n.s.
H3.5 n.s.
24시간
% 살아있는 MOLT4-GFP 세포
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
0
20
40
60
80
100
120
140

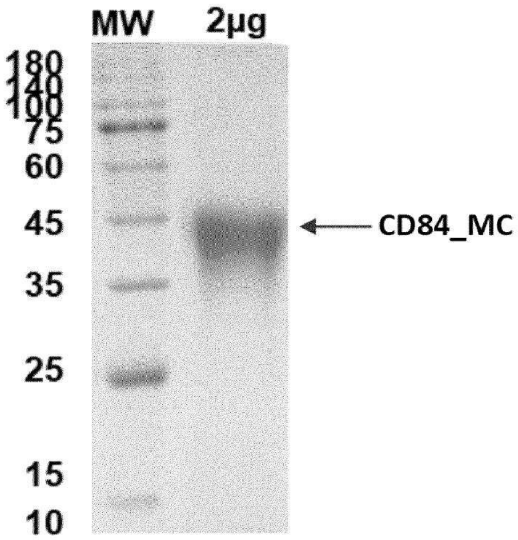
도면18


CD19+ B 세포
CD14+ 단핵구
Ramos
세포 계수
73,3
99,1
97,5
CD84
CD4+T 세포
CD8+T 세포
58,1
54
아이소형
CD84

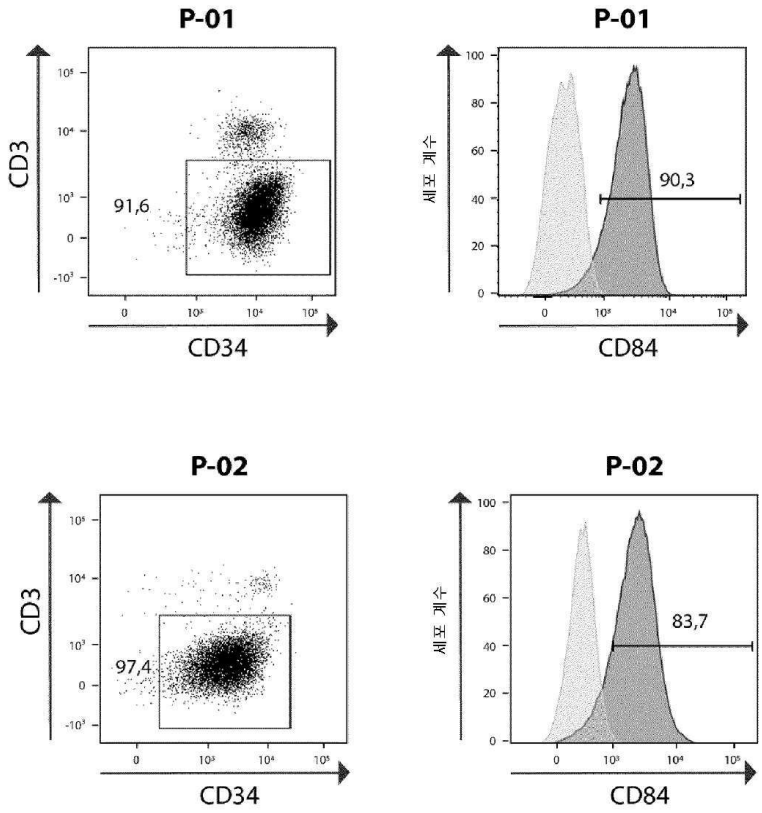
도면19


PBMC
Ramos
H3.5
G7.5
153.5
153.4
152.3
UT
2:1 비
4:1 비
% 살아있는 세포

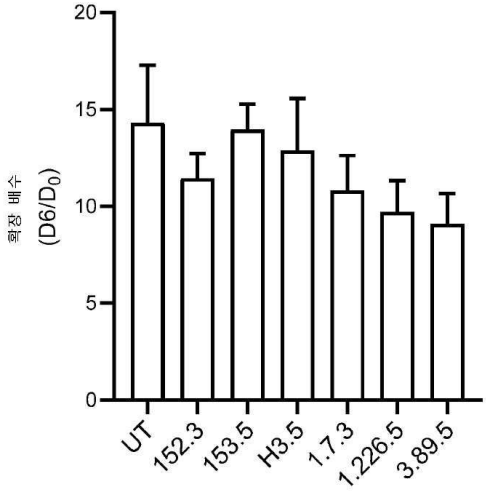
도면20


MW
2μg
180
140
100
75
60
45
35
25
15
10
CD84_MC

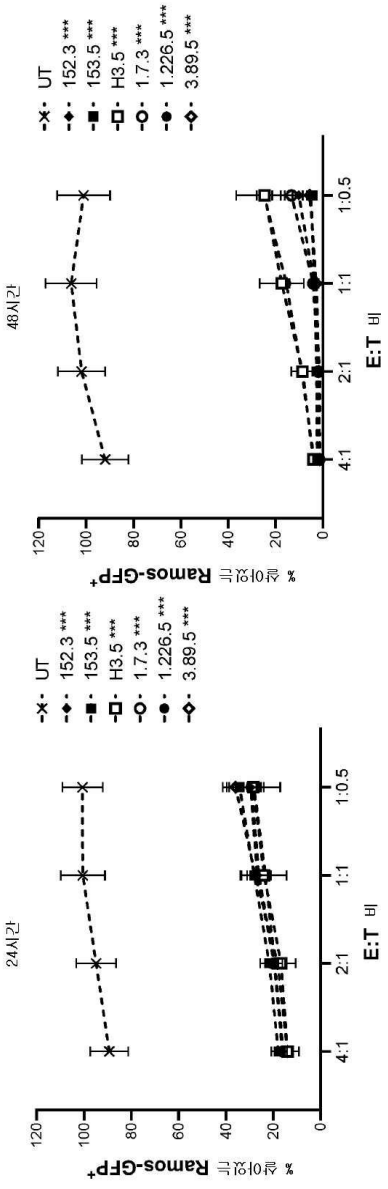
도면21


P-01
CD3
CD34
91,6
P-01
세포 계수
CD84
90,3
P-02
CD3
CD34
97,4
P-02
세포 계수
CD84
83,7

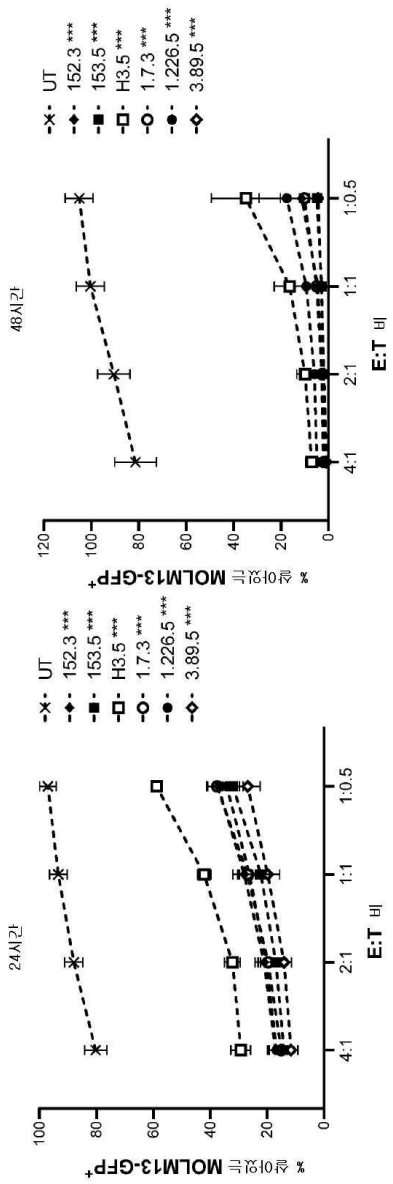
도면22


확장 배수
(D6/D0)
20
15
10
5
0
UT
152.3
153.5
H3.5
1.7.3
1.226.5
3.89.5

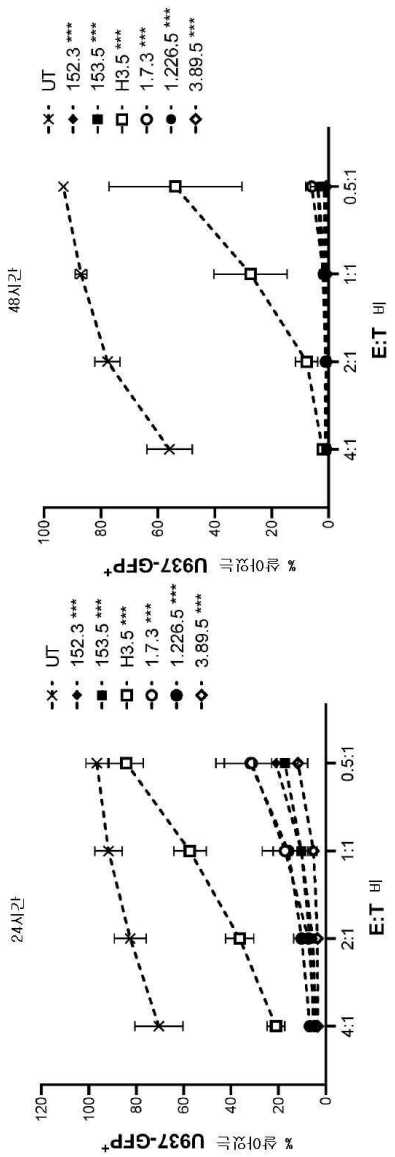
도면23


48시간
24시간
UT
152.3 ***
153.5 ***
H3.5 ***
1.7.3 ***
1.226.5 ***
3.89.5 ***
% 살아있는 Ramos-GFP+
120
100
80
60
40
20
0
4:1
2:1
1:1
1:0.5
E:T 비

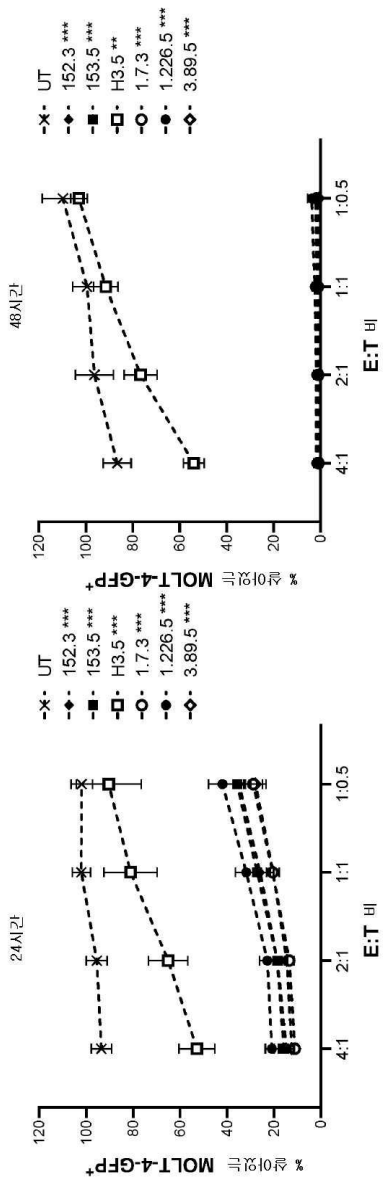
도면24


24시간
48시간
% 살아있는 MOLM13-GFP+
E:T 비
4:1
2:1
1:1
1:0.5
UT
152.3 ***
153.5 ***
H3.5 ***
1.7.3 ***
1.226.5 ***
3.89.5 ***

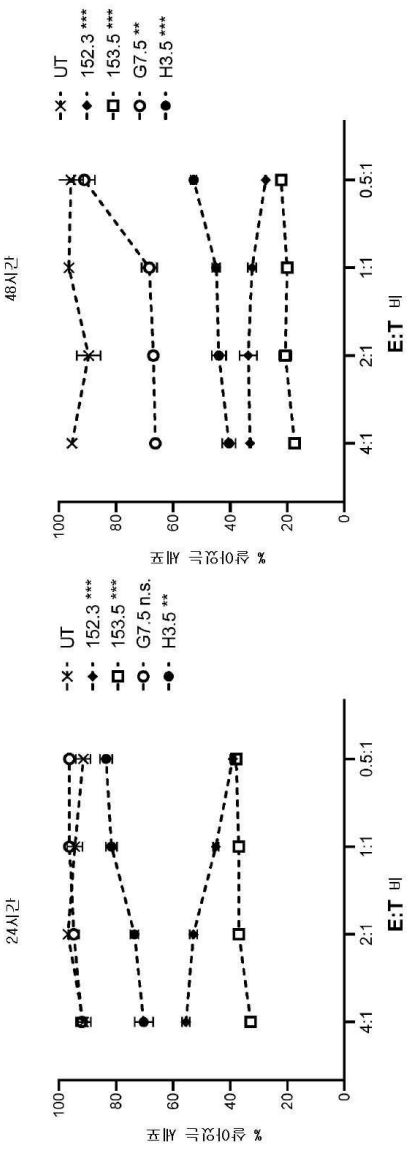
도면25


48시간
24시간
% 살아있는 U937-GFP+
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
UT
152.3 ***
153.5 ***
H3.5 ***
1.7.3 ***
1.226.5 ***
3.89.5 ***

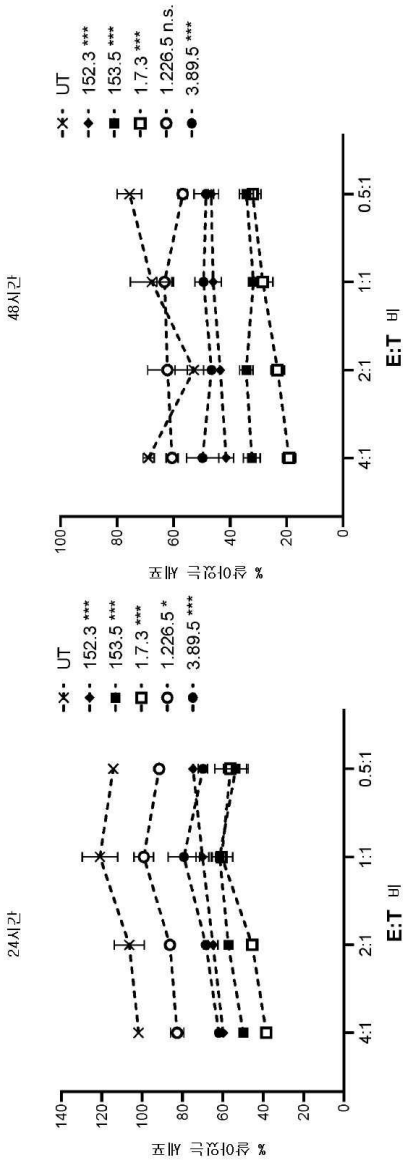
도면26


24시간
48시간
% 살아있는 MOLT-4-GFP+
E:T 비
4:1
2:1
1:1
1:0.5
0
20
40
60
80
100
120
UT
152.3 ***
153.5 ***
H3.5 **
1.7.3 ***
1.226.5 ***
3.89.5 ***

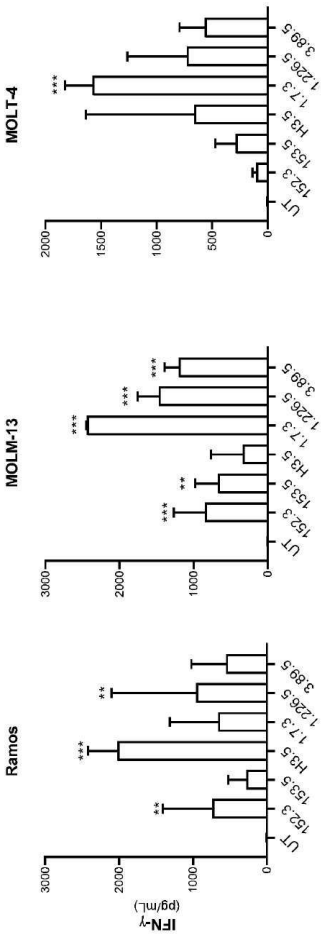
도면27


24시간
48시간
% 살아있는 세포
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
0
20
40
60
80
100
UT
152.3 ***
153.5 ***
G7.5 n.s.
H3.5 **
G7.5 **
H3.5 ***

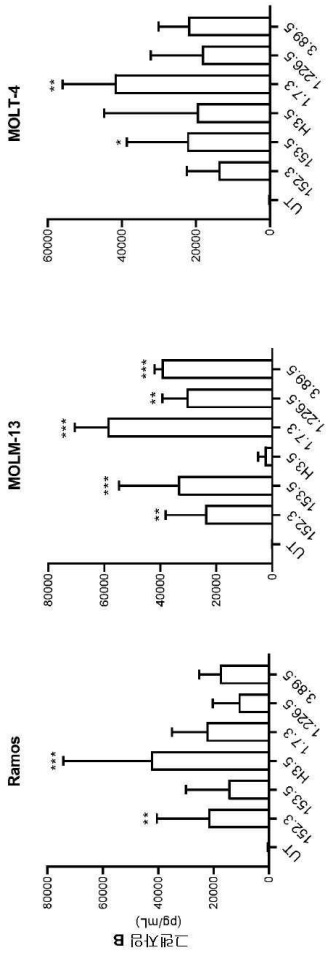
도면28


24시간
48시간
% 살아있는 세포
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
UT
152.3 ***
153.5 ***
1.7.3 ***
1.226.5 *
1.226.5 n.s.
3.89.5 ***

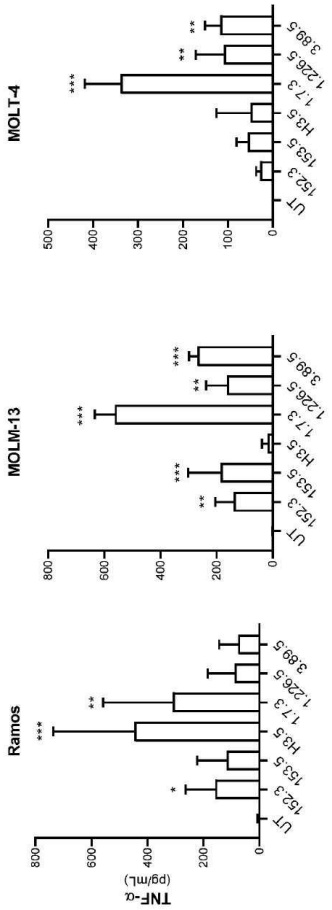
도면29


MOLT-4
MOLM-13
Ramos
IFN-γ (pg/mL)
UT
152.3
153.5
H3.5
17.3
1226.5
3.89.5
0
500
1000
1500
2000
2000
3000

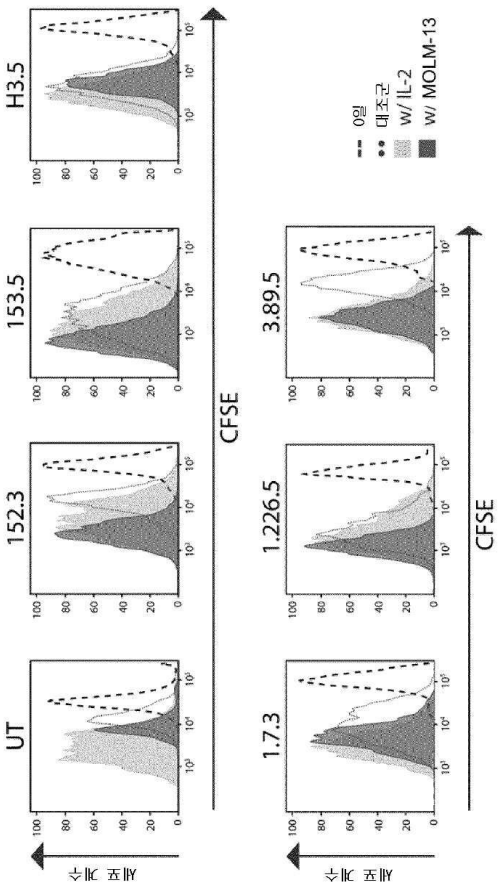
도면30


MOLT-4
MOLM-13
Ramos
UT
152.3
153.5
H3.5
1.7.3
1.226.5
3.89.5
0
20000
40000
60000
80000
그랜자임 B
(pg/mL)

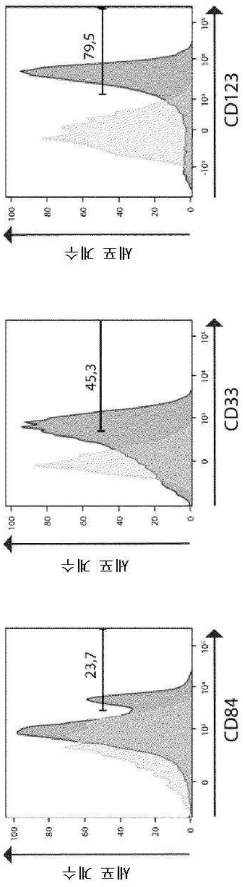
도면31



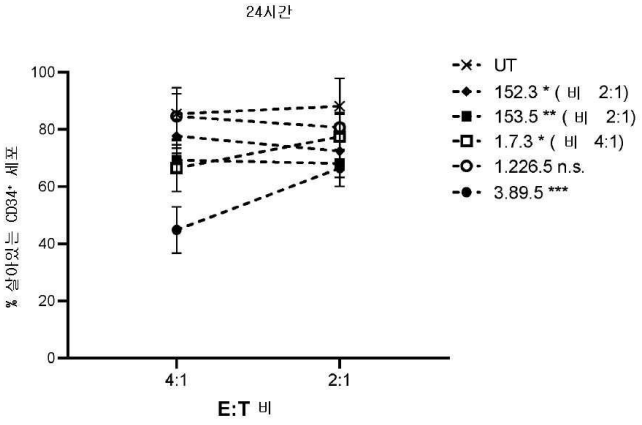
도면32


UT
152.3
153.5
H3.5
1.7.3
1.226.5
3.89.5
CFSE
CFSE
세포 개수
세포 개수
0일
대조군
w/ IL-2
w/ MOLM-13

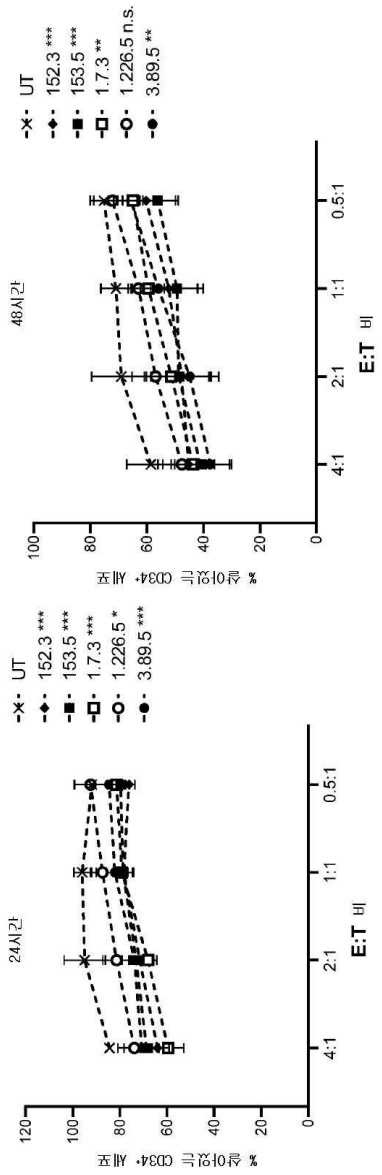
도면33


79.5
CD123
세포 개수
45.3
CD33
세포 개수
23.7
CD84
세포 개수

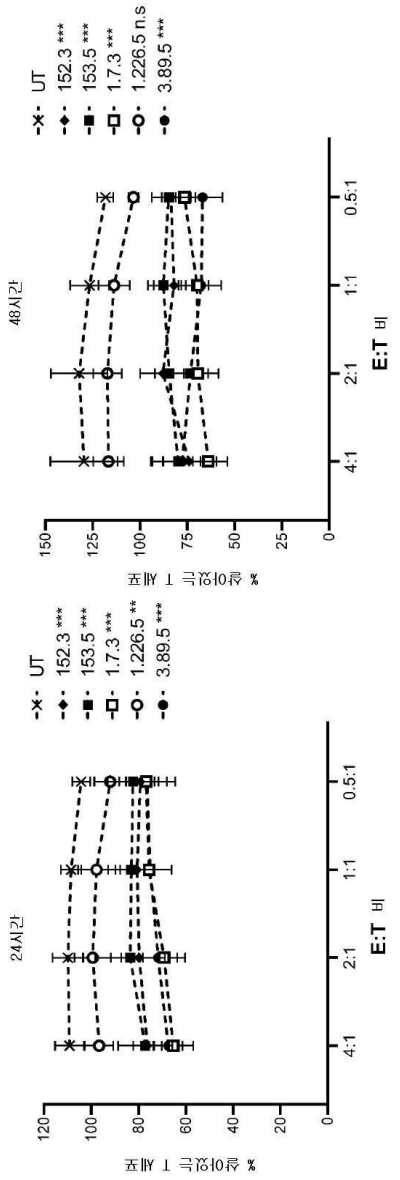
도면34


24시간
% 살아있는 CD34+ 세포
100
80
60
40
20
0
4:1
2:1
E:T 비
UT
152.3 * (비 2:1)
153.5 ** (비 2:1)
1.7.3 * (비 4:1)
1.226.5 n.s.
3.89.5 ***

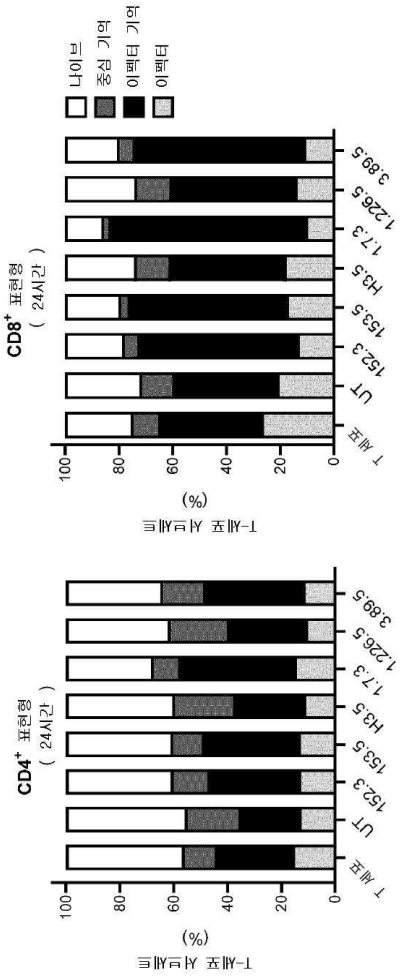
도면35


24시간
48시간
% 살아있는 CD34+ AML 표
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
UT
152.3 ***
153.5 ***
1.7.3 ***
1.226.5 *
3.89.5 ***
1.226.5 n.s.
3.89.5 **

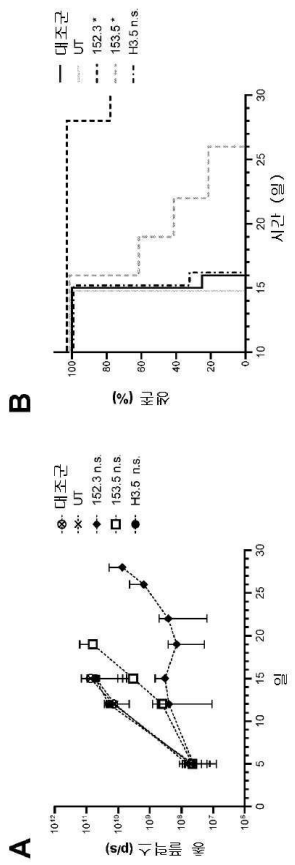
도면36


24시간
48시간
% 살아있는 T 세포
E:T 비
4:1
2:1
1:1
0.5:1
UT
152.3 ***
153.5 ***
1.7.3 ***
1.226.5 **
1.226.5 n.s
3.89.5 ***

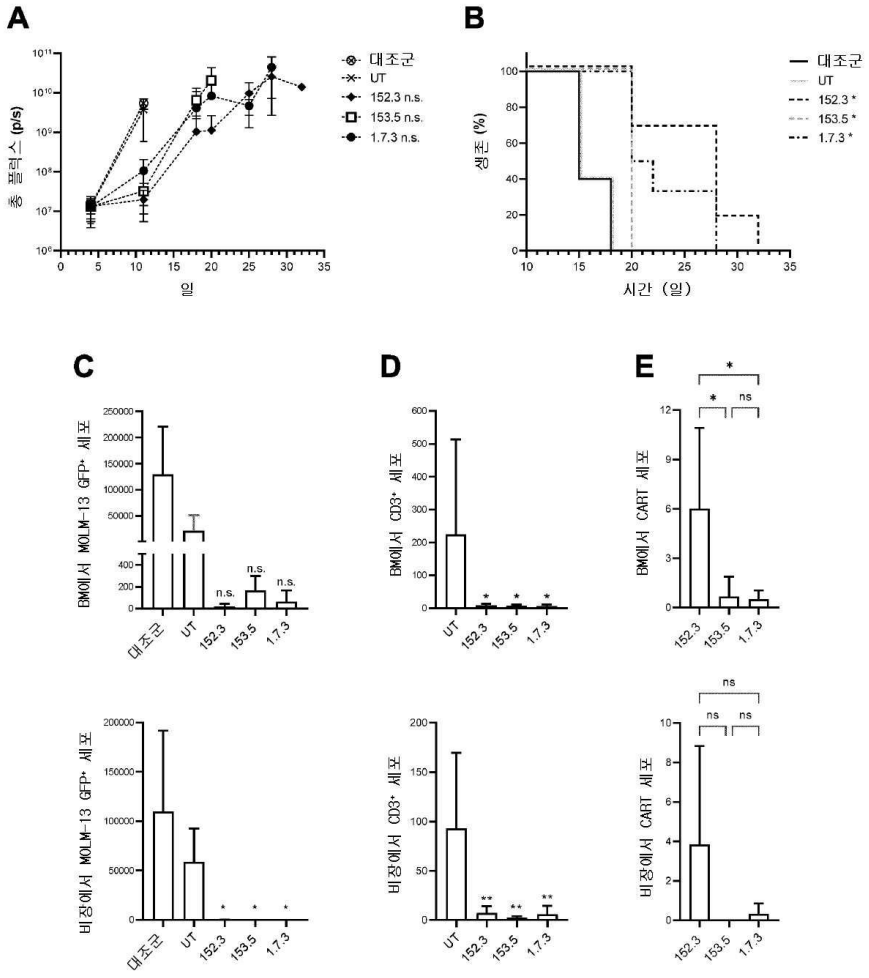
도면37


나이브
중심 기억
이펙터 기억
이펙터
CD8+ 표현형
(24시간)
T 세포
UT
152.3
153.5
H3.5
17.3
1226.5
3.89.5
(%)
T-세포 서브세트
CD4+ 표현형
(24시간)
T 세포
UT
152.3
153.5
H3.5
17.3
1226.5
3.89.5
(%)
T-세포 서브세트

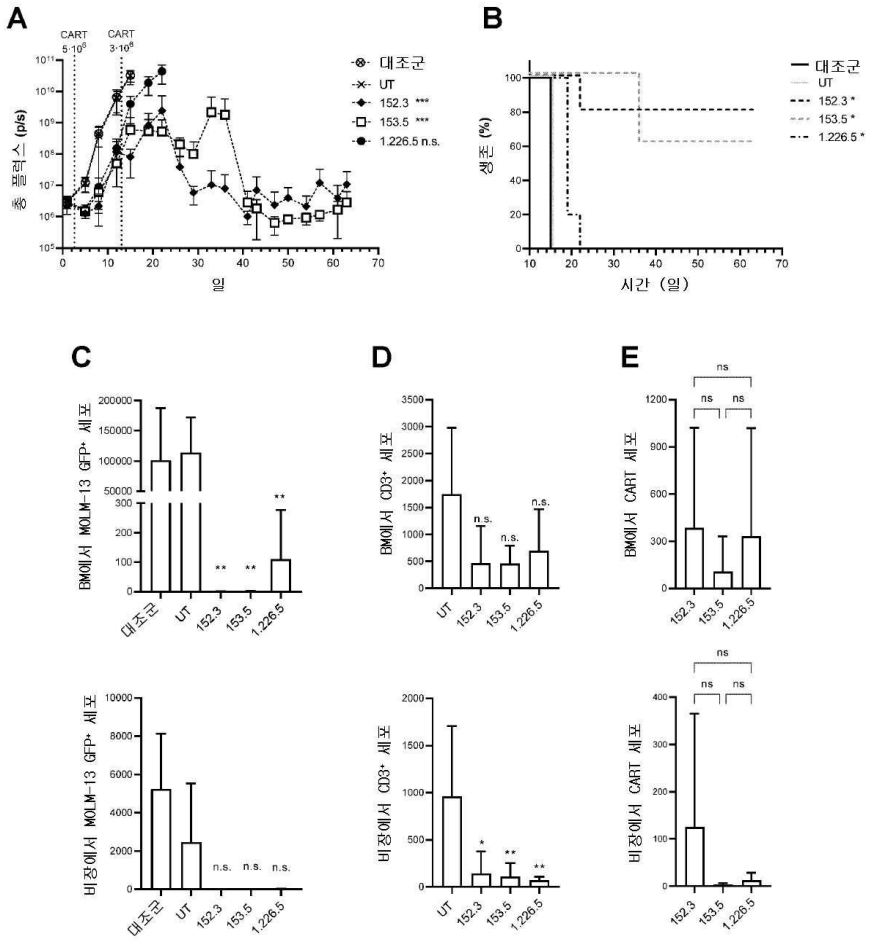
도면38


A
대조군
UT
152.3 n.s.
153.5 n.s.
H3.5 n.s.
(s/d) 수 늘림 혈소판 생
일
B
대조군
UT
152.3 *
153.5 *
H3.5 n.s.
생존율 (%)
시간 (일)

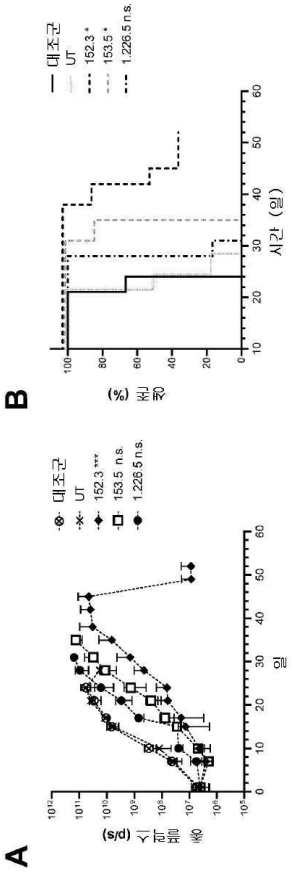
도면39


A
총 플럭스 (p/s)
일
대조군
UT
152.3 n.s.
153.5 n.s.
1.7.3 n.s.
B
생존 (%)
시간 (일)
대조군
UT
152.3 *
153.5 *
1.7.3 *
C
BM에서 MOLM-13 GFP+ 세포
비장에서 MOLM-13 GFP+ 세포
n.s.
대조군
UT
152.3
153.5
1.7.3
D
BM에서 CD3+ 세포
비장에서 CD3+ 세포
E
BM에서 CART 세포
비장에서 CART 세포
ns

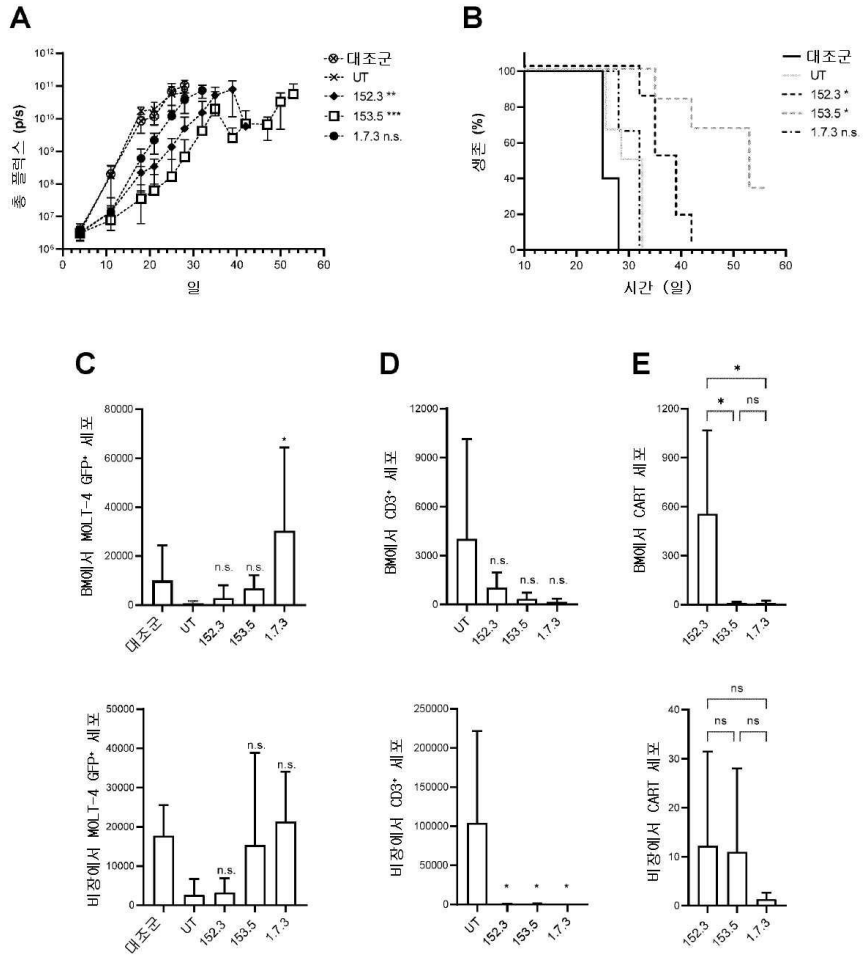
도면40


A
CART 5·10^6
CART 3·10^6
총 플럭스 (p/s)
일
대조군
UT
152.3 ***
153.5 ***
1.226.5 n.s.
B
생존 (%)
시간 (일)
대조군
UT
152.3 *
153.5 *
1.226.5 *
C
BM에서 MOLM-13 GFP+ 세포
비장에서 MOLM-13 GFP+ 세포
대조군
UT
152.3
153.5
1.226.5
n.s.
D
BM에서 CD3+ 세포
비장에서 CD3+ 세포
E
BM에서 CART 세포
비장에서 CART 세포
ns

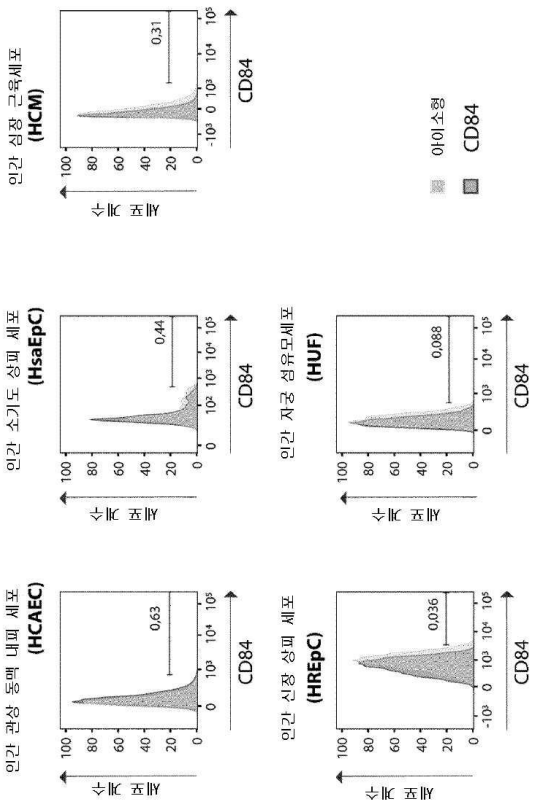
도면41


A
대조군
UT
152.3 ***
153.5 n.s.
1,226.5 n.s.
총 플럭스 (p/s)
일
B
대조군
UT
152.3 *
153.5 *
1,226.5 n.s.
생존 (%)
시간 (일)

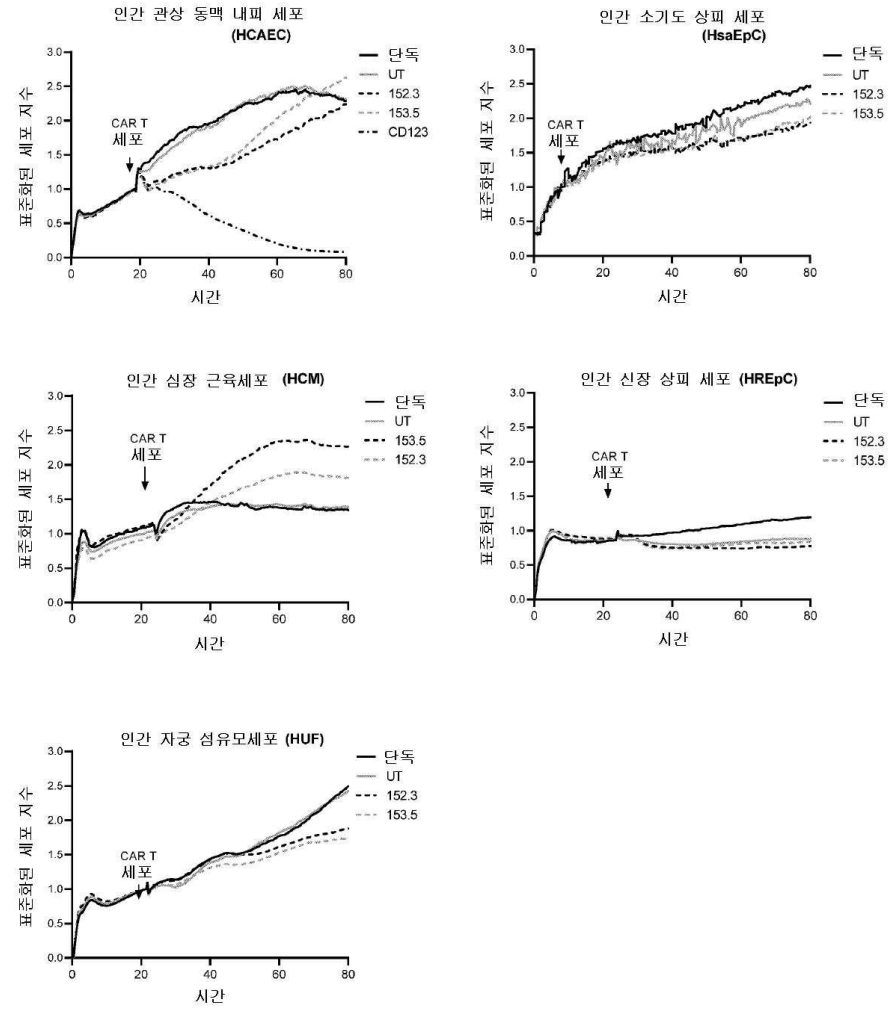
도면42


A
B
C
D
E
대조군
UT
152.3 **
153.5 ***
1.7.3 n.s.
총 플럭스 (p/s)
일
생존 (%)
시간 (일)
152.3 *
153.5 *
1.7.3 n.s.
BM에서 MOLT-4 GFP+ 세포
BM에서 CD3+ 세포
BM에서 CART 세포
비장에서 MOLT-4 GFP+ 세포
비장에서 CD3+ 세포
비장에서 CART 세포
n.s.
ns

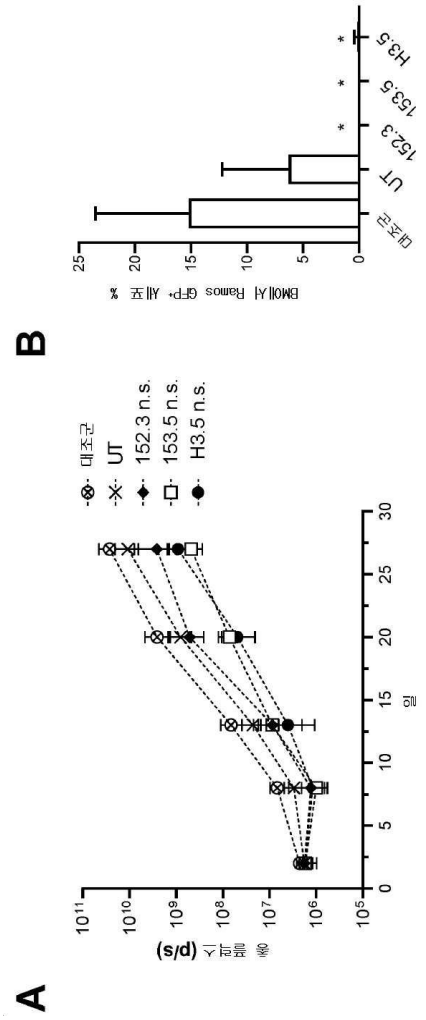
도면43


인간 심장 근육세포
(HCM)
0,31
인간 소기도 상피 세포
(HsaEpC)
0,44
인간 자궁 섬유모세포
(HUF)
0,088
인간 관상 동맥 내피 세포
(HCAEC)
0,63
인간 신장 상피 세포
(HREpC)
0,036
세포 개수
CD84
아이소형
CD84

도면44


인간 관상 동맥 내피 세포
(HCAEC)
표준화된 세포 지수
시간
CAR T
세포
단독
UT
152.3
153.5
CD123
인간 소기도 상피 세포
(HsaEpC)
표준화된 세포 지수
시간
CAR T
세포
단독
UT
152.3
153.5
인간 심장 근육세포 (HCM)
표준화된 세포 지수
시간
CAR T
세포
단독
UT
153.5
152.3
인간 신장 상피 세포 (HREpC)
표준화된 세포 지수
시간
CAR T
세포
단독
UT
152.3
153.5
인간 자궁 섬유모세포 (HUF)
표준화된 세포 지수
시간
CAR T
세포
단독
UT
152.3
153.5

도면45


A
B
대조군
UT
152.3 n.s.
153.5 n.s.
H3.5 n.s.
일
총 플럭스 (p/s)
BMOI처 Ramos GFP+ 세포 %
대조군
UT
152.3
153.5
H3.5

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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