



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0110326
(43) 공개일자 2020년09월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/47 (2006.01) A61K 31/436 (2006.01)
A61K 35/17 (2014.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 38/13 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01) C07K 14/715 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/47 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7020228
- (22) 출원일자(국제) 2018년12월14일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년07월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/065786
- (87) 국제공개번호 WO 2019/118895
국제공개일자 2019년06월20일
- (30) 우선권주장
62/598,923 2017년12월14일 미국(US)
- (71) 출원인
블루버드 바이오, 인코포레이티드.
미국, 매사추세츠 02142, 캠프리지, 60 비니 스트리트
- (72) 발명자
링 와이-항
미국, 워싱턴 98199, 시애틀, 3439에이 22 애비뉴웨스트
- (74) 대리인
특허법인한얼

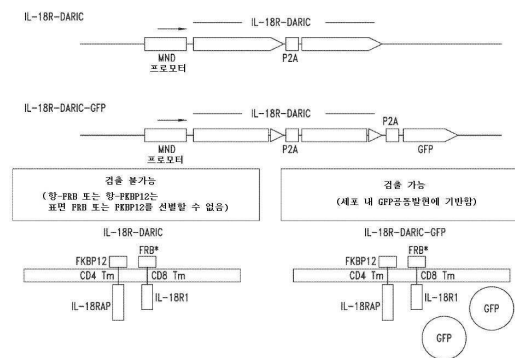
전체 청구항 수 : 총 110 항

(54) 발명의 명칭 DARIC 인터류킨 수용체

(57) 요약

본 개시내용은 암, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환, 및 면역결핍, 또는 이들과 연관된 병태의 적어도 하나의 증상을 치료하거나, 예방하거나, 개선시키기 위한 양자 T 세포 요법을 위한 개선된 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61K 35/17 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
A61K 38/13 (2013.01)
A61K 39/001102 (2018.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/70596 (2013.01)
C07K 14/7155 (2013.01)
C07K 14/7156 (2013.01)
C12N 5/0636 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

융합 폴리펩타이드로서,

(a) 하기 (i) 내지 (iii)을 포함하는 제1 폴리펩타이드:

(i) 제1 다량체화 도메인;

(ii) 제1 막관통 도메인; 및

(iii) 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인;

(b) 폴리펩타이드 절단 신호; 및

(c) 하기 (i) 내지 (iii)을 포함하는 제2 폴리펩타이드:

(i) 제2 다량체화 도메인;

(ii) 제2 막관통 도메인; 및

(iii) 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인

을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인과 상기 제2 다량체화 도메인은 동일한, 융합 폴리펩타이드.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인과 상기 제2 다량체화 도메인은 상이한, 융합 폴리펩타이드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인 및 상기 제2 다량체화 도메인은 라파마이신 또는 이의 라팔로그(rapalog), 코우머마이신(coumermycin) 또는 이의 유도체, 지베렐린 또는 이의 유도체, 아브시스산(ABA) 또는 이의 유도체, 메토틱렉세이트 또는 이의 유도체, 사이클로스포린 A 또는 이의 유도체, FK506/사이클로스포린 A(FKCsA) 또는 이의 유도체, 및 FK506 결합 단백질(FKBP)에 대한 트라이메토프림(Tmp)-합성 리간드(SLF) 또는 이의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택되는 브리징 인자(bridging factor)와 결합되는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인 및 상기 제2 다량체화 도메인은 FKBP 및 FKBP12-라파마이신 결합(FRB) 또는 이들의 변이체; FKBP 및 칼시뉴린 또는 이의 변이체; FKBP 및 사이클로필린 또는 이들의 변이체; FKBP 및 박테리아 다이하이드로엽산 환원효소(DHFR) 또는 이들의 변이체; 칼시뉴린 및 사이클로필린 또는 이들의 변이체; PYR1-유사 1(PYL1) 및 아브시스산 비민감성 1(ABI1) 또는 이들의 변이체; 및 GIB1 및 GAI 또는 이들의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택되는 쌍인, 융합 폴리펩타이드.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인은 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하고, 상기 제2 다량체화 도메인은 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인은 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를

포함하고, 상기 제2 다량체화 도메인은 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 FRB T2098L 및 FKBP12로부터 선택되고; 상기 브리징 인자는 AP21967인, 융합 폴리펩타이드.

청구항 9

제4항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스(sirolimus), 에베로리무스(everolimus), 노보리무스(novolumus), 피메크로리무스(pimecrolimus), 리다포로리무스(ridaforolimus), 타크로리무스(tacrolimus), 템시로리무스(temsirolimus), 우미로리무스(umiroliimus) 및 조타로리무스(zotarolimuss)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 막관통 도메인 및 상기 제2 막관통 도메인은 CD4 막관통 도메인, CD8 α 막관통 도메인, 암니온리스(amnionless: AMN) 막관통 도메인, CD28 막관통 도메인, CD154 막관통 도메인 및 CD71 막관통 도메인으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 막관통 도메인 및 상기 제2 막관통 도메인은 CD4 막관통 도메인 및 CD8 α 막관통 도메인으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 막관통 도메인과 상기 제2 막관통 도메인은 동일한, 융합 폴리펩타이드.

청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 막관통 도메인과 상기 제2 막관통 도메인은 상이한, 융합 폴리펩타이드.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인 및 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체 또는 톨-유사 수용체(toll-like receptor)로부터 단리된, 융합 폴리펩타이드.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12Rβ2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12Rβ1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 16

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12Rβ1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12Rβ2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 17

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-7Rα 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2Rγ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 18

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 19

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 20

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 21

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 22

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 23

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 24

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 25

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 26

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 27

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RL2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 28

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RL2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 29

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 30

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 31

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 32

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 33

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR3 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR3 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 34

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR4 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR4 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 35

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR5 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR5 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 36

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR6 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR6 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 37

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR7 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR7 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 38

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR8 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR8 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 39

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR9 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR9 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 40

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR10 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR10 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드인, 융합 폴리펩타이드.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 2A 폴리펩타이드인, 융합 폴리펩타이드.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드 절단 신호는 구제역 바이러스(foot-and-mouth disease virus: FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(equine rhinitis A virus: ERAV)(E2A) 펩타이드, 토 세아 아시그나 바이러스(Thosea asigna virus: TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(porcine teschovirus-1: PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 뇌심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드인, 융합 폴리펩타이드.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드가 발현될 때 상기 제1 다량체화 도메인이 세포외로 국소화되고, 상기 제2 폴리펩타이드가 발현될 때 상기 제2 다량체화 도메인이 세포외로 국소화되는, 융합 폴리펩타이드.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항의 융합 폴리펩타이드를 포함하는, 조성물.

청구항 46

조성물로서,

(a) 하기 (i) 내지 (iii)을 포함하는 제1 폴리펩타이드:

- (i) 제1 다량체화 도메인;
- (ii) 제1 막관통 도메인; 및
- (iii) 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인; 및

(b) 하기 (i) 내지 (iii)을 포함하는 제2 폴리펩타이드:

- (i) 제2 다량체화 도메인;
- (ii) 제2 막관통 도메인; 및

(iii) 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인

을 포함하는, 조성물.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인과 상기 제2 다량체화 도메인은 동일한, 조성물.

청구항 48

제46항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인과 상기 제2 다량체화 도메인은 상이한, 조성물.

청구항 49

제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인과 상기 제2 다량체화 도메인은 라파마이신 또는 이의 라팔로그, 코우머마이신 또는 이의 유도체, 지베렐린 또는 이의 유도체, 아브시스산(ABA) 또는 이의 유도체, 메토틱세이트 또는 이의 유도체, 사이클로스포린 A 또는 이의 유도체, FK506/사이클로스포린 A(FKCsA) 또는 이의 유도체, 및 FK506 결합 단백질(FKBP)에 대한 트라이메토프림(Tmp)-합성 리간드(SLF) 또는 이의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택된 브리징 인자에 결합하는, 조성물.

청구항 50

제46항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인과 상기 제2 다량체화 도메인은 FKBP 및 FKBP12-라파마이신 결합(FRB) 또는 이들의 변이체; FKBP 및 칼시뉴린 또는 이들의 변이체; FKBP 및 사이클로필린 또는 이들의 변이체; FKBP 및 박테리아 다이하이드로엽산 환원효소(DHFR) 또는 이들의 변이체; 칼시뉴린 및 사이클로필린 또는 이들의 변이체; PYR1-유사 1(PYL1) 및 아브시스산 비민감성 1(ABI1) 또는 이들의 변이체; 및 GIB1 및 GAI 또는 이들의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택되는 쌍인, 조성물.

청구항 51

제46항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인은 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하고, 상기 제2 다량체화 도메인은 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하는, 조성물.

청구항 52

제46항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인은 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하고, 상기 제2 다량체화 도메인은 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하는, 조성물.

청구항 53

제46항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 FRB T2098L 및 FKBP12로부터 선택되고; 상기 브리징 인자는 AP21967인, 조성물.

청구항 54

제49항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포르리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 및 조타로리무스로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 55

제46항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 막관통 도메인 및 상기 제2 막관통 도메인은 CD4 막관통 도메인, CD8 α 막관통 도메인, 암니온리스(AMN) 막관통 도메인, CD28 막관통 도메인, CD154 막관통 도메인 및 CD71 막관통 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 56

제46항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 막관통 도메인 및 상기 제2 막관통 도메인은 CD4 막관통 도메인 및 CD8 α 막관통 도메인으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는, 조성물.

청구항 57

제46항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 막관통 도메인과 상기 제2 막관통 도메인은 동일한, 조성물.

청구항 58

제46항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 막관통 도메인과 상기 제2 막관통 도메인은 상이한, 조성물.

청구항 59

제46항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인 및 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체 또는 톨-유사 수용체로부터 단리된, 조성물.

청구항 60

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 61

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 62

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 63

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 64

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 65

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 66

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 67

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 68

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 69

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 70

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 71

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 72

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RL2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 73

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RL2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 74

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 75

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 76

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 77

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 78

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR3 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR3 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 79

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR4 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR4 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 80

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR5 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR5 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 81

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR6 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR6 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 82

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR7 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR7 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 83

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR8 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR8 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 84

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR9 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR9 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 85

제46항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR10 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR10 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 86

제45항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 세포를 더 포함하는, 조성물.

청구항 87

제1항 내지 제85항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드 복합체.

청구항 88

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항의 융합 폴리펩타이드 또는 제1항 내지 제85항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 암호화하는, 폴리뉴클레오타이드.

청구항 89

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항의 융합 폴리펩타이드 또는 제1항 내지 제85항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 암호화하는, cDNA.

청구항 90

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항의 융합 폴리펩타이드 또는 제1항 내지 제85항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 암호화하는, RNA.

청구항 91

제88항 내지 제90항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는, 벡터.

청구항 92

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항의 융합 폴리펩타이드, 제1항 내지 제85항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드, 제88항 내지 제90항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드, 또는 제91항의 벡터를 포함하는, 세포.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 세포는 조혈세포인, 세포.

청구항 94

제92항 또는 제93항에 있어서, 상기 세포는 T 세포인, 세포.

청구항 95

제92항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포는 CD3⁺, CD4⁺ 및/또는 CD8⁺ 세포인, 세포.

청구항 96

제92항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포는 면역 효과기 세포인, 세포.

청구항 97

제92항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포는 세포독성 T 림프구(cytotoxic T lymphocyte: CTL), 종양 침윤성 림프구(tumor infiltrating lymphocyte: TIL) 또는 헬퍼 T 세포인, 세포.

청구항 98

제92항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포는 자연 살해(natural killer: NK) 세포 또는 자연 살해 T(natural killer T: NKT) 세포인, 세포.

청구항 99

제92항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 공급원은 말초혈액 단핵세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉수, 비장 조직, 또는 종양인, 세포.

청구항 100

제92항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서, 조각된 항원 수용체를 더 포함하는, 세포.

청구항 101

제100항에 있어서, 상기 조작된 항원 수용체는 조작된 T 세포 수용체(T cell receptor: TCR), 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor: CAR), DARIC 수용체 또는 이들의 성분, 및 키메라 사이토카인 수용체로 이루어진 군으로부터 선택되는, 세포.

청구항 102

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항의 융합 폴리펩타이드, 제1항 내지 제85항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드, 제88항 내지 제90항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드, 제91항의 벡터, 또는 제92항 내지 제101항 중 어느 한 항의 세포를 포함하는, 조성물.

청구항 103

약제학적으로 허용 가능한 담체 및 제1항 내지 제45항 중 어느 한 항의 융합 폴리펩타이드, 제1항 내지 제85항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드, 제88항 내지 제90항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드, 제91항의 벡터, 또는 제92항 내지 제101항 중 어느 한 항의 세포를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 104

유효량의 제103항의 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 치료가 필요한 대상체의 치료 방법.

청구항 105

암, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환 및 면역결핍의 적어도 하나의 증상, 또는 이들과 연관된 병태를 치료하거나, 예방하거나 또는 개선시키는 방법으로서, 유효량의 제103항의 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 치료하거나, 예방하거나 또는 개선시키는 방법.

청구항 106

고형암의 치료 방법으로서, 대상체에게 유효량의 제103항의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 고형암의 치료 방법.

청구항 107

제106항에 있어서, 상기 고형암은 간암, 췌장암, 폐암, 유방암, 난소암, 전립선암, 고환암, 방광암, 뇌암, 육종, 두경부암, 골암, 갑상선암, 신장암 또는 피부암을 포함하는, 고형암의 치료 방법.

청구항 108

제105항 또는 제106항에 있어서, 상기 고형암은 췌장암, 폐암 또는 유방암인, 고형암의 치료 방법.

청구항 109

혈액학적 악성종양의 치료 방법으로서, 대상체에게 유효량의 제103항의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 혈액학적 악성종양의 치료 방법.

청구항 110

제109항에 있어서, 상기 혈액학적 악성종양은 백혈병, 림프종 또는 다발성 골수종인, 혈액학적 악성종양의 치료 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호참조

[0002] 본 출원은 미국 특허법(35 U.S.C. § 119(e)) 하에 2017년 12월 14일자로 출원된 미국 가출원 특허 제 62/598,923호의 우선권을 주장하며, 이의 전문은 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0003] 서열목록에 관한 언급

[0004] 본 출원과 관련된 서열목록은 종이 사본 대신에 텍스트 형식으로 제공되며, 여기서 본 명세서 내에 참고로 편입된다. 서열목록을 함유하는 텍스트 파일명은 BLBD_092_01WO_ST25.txt이다. 텍스트 파일은 28KB이며, 2018년 12월 14일자로 생성되었고, 본 명세서의 출원과 동시에 EFS-Web을 통해 전자적으로 제출 중에 있다.

[0005] **기술분야**

[0006] 본 개시내용은 개선된 양자 세포 요법(adoptive cell therapy)에 관한 것이다. 더 구체적으로는, 본 개시내용은 개선된 화학적으로 조절된 신호전달 분자, 세포, 및 양자 면역요법 동안 세포 신호 개시 및 하류의 반응의 공간적 및 일시적 제어를 조절하기 위해 이들을 이용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 암의 전세계적 부담은 1975 내지 2000년에 2배가 되었다. 암은 전세계적으로 이환율 및 사망률의 두 번째 주된 원인이며, 2012년에 대략 1천 4백 십만건의 새로운 사례 및 8백 2십만건의 암관련 사망이 있었다. 가장 통상적인 암은 유방암, 폐 및 기관지암, 전립선암, 결장 및 직장암, 방광암, 피부의 흑색종, 비호지킨 림프종, 갑상선암, 신장 및 신우암, 자궁내막암, 백혈병 및 췌장암이다. 새로운 암 사례의 수는 다음 20년 내에 2천 2백만건까지 상승할 것으로 추정된다.

[0008] 양자 세포 요법은 암을 치료하기 위해 복잡한 생물학적 신호를 전달하기 위한 강력한 패러다임으로서 생겨나고 있다. 소분자 및 생물학적 약물 조성물과 대조적으로, 양자 세포 요법은 이들의 무수한 감각 및 반응 프로그램 및 점점 더 한정되는 유전자 제어 메커니즘 때문에 독특한 치료적 작업을 실행하기 위한 잠재력을 가진다. 이러한 치료적 값을 달성하기 위해, 세포는 국소 생리적 환경과 연관된 화학적 및/또는 생물학적 정보를 감지하고 통합하는 기작을 갖출 필요가 있다.

발명의 내용

[0009] 본 개시내용은 일반적으로, 부분적으로, IL DARIC 조성물, 폴리뉴클레오타이드, 폴리펩타이드, 및 이의 제조 및 이용 방법에 관한 것이다.

[0010] 다양한 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호를 포함하는, 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인; 및 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 제2 폴리펩타이드를 포함하는, 융합 폴리펩타이드를 상정한다.

[0011] 특정 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.

[0012] 일부 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 상이하다.

[0013] 일부 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 라파마이신 또는 이의 라팔로그, 코우머마이신 또는 이의 유도체, 지베렐린 또는 이의 유도체, 아브시스산(ABA) 또는 이의 유도체, 메토틱세이트 또는 이의 유도체, 사이클로스포린 A 또는 이의 유도체, FK506/사이클로스포린 A(FKCsA) 또는 이의 유도체, 및 FK506 결합 단백질(FKBP)에 대한 트라이메토프림(Tmp)-합성 리간드(SLF) 또는 이의 유도체로 이루어진 군으로부터 선택되는 브리징 인자와 결합된다.

[0014] 특정 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 FKBP 및 FKBP12-라파마이신 결합(FRB) 또는 이들의 변이체; FKBP 및 칼시뉴린 또는 이들의 변이체; FKBP 및 사이클로필린 또는 이들의 변이체; FKBP 및 박테리아 다이하이드로엽산 환원효소(DHFR) 또는 이들의 변이체; 칼시뉴린 및 사이클로필린 또는 이들의 변이체; PYR1-유사 1(PYL1) 및 아브시스산 비민감성 1(ABI1) 또는 이들의 변이체; 및 GIB1 및 GAI 또는 이들의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된 쌍이다.

[0015] 다양한 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인은 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하고, 제2 다량체화 도메인은 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0016] 특정 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인은 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하고, 제2 다량체화 도메인은 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0017] 특정 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 FRB T2098L 및 FKBP12로부터 선택되고; 브리징 인자는 AP21967이다.

- [0018] 특정 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스(sirolimus), 에베로리무스(everolimus), 노보리무스(novolimus), 피메크로리무스(pimecrolimus), 리다포르리무스(ridaforolimus), 타크로리무스(tacrolimus), 템시로리무스(temsirolimus), 우미로리무스(umirolimus) 및 조타로리무스(zotarolimus)로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0019] 일부 실시형태에서, 제1 막관통 도메인 및 제2 막관통 도메인은 CD4 막관통 도메인, CD8 α 막관통 도메인, 암니온리스(ammionless: AMN) 막관통 도메인, CD28 막관통 도메인, CD154 막관통 도메인 및 CD71 막관통 도메인으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.
- [0020] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인 및 제2 막관통 도메인은 CD4 막관통 도메인 및 CD8 α 막관통 도메인으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.
- [0021] 일부 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 동일하다.
- [0022] 다양한 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 상이하다.
- [0023] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인 및 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체 또는 톨-유사 수용체로부터 단리된다.
- [0024] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0025] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0026] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0027] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0028] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0029] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0030] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0031] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0032] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0033] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0034] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0035] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0036] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RL2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0037] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RL2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0038] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제

2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

- [0039] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0040] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는.
- [0041] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0042] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR3 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR3 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0043] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR4 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR4 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0044] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR5 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR5 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0045] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR6 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR6 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0046] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR7 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR7 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0047] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR8 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR8 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0048] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR9 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR9 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0049] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR10 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR10 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0050] 다양한 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다.
- [0051] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 2A 폴리펩타이드이다.
- [0052] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 구제역 바이러스(foot-and-mouth disease virus: FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(equine rhinitis A virus: ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(Thosea asigna virus: TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(porcine teschovirus-1: PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 뇌심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다.
- [0053] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드가 발현될 때 제1 다량체화 도메인이 세포외로 국소화하고, 제2 폴리펩타이드가 발현될 때 제2 다량체화 도메인이 세포외로 국소화한다.
- [0054] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 융합 폴리펩타이드를 포함하는 조성물이 제공된다.
- [0055] 다양한 실시형태에서, 본 개시내용은 부분적으로, 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 제2 폴리펩타이드를 포함하는, 조성물을 상정한다.
- [0056] 일부 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.
- [0057] 다양한 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 상이하다.
- [0058] 특정 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 라파마이신 또는 이의 라팔로그, 코우머마이신 또는 이의 유도체, 지베렐린 또는 이의 유도체, 아브시스산(ABA) 또는 이의 유도체, 메토틱세이트 또는 이의 유도체, 사이클로스포린 A 또는 이의 유도체, FK506/사이클로스포린 A(FKCsA) 또는 이의 유도체, 및 FK506 결합 단백질(FKBP)에 대한 트라이메토프림(Tmp)-합성 리간드(SLF) 또는 이의 유도체로 이루어진 군으로부터 선

택되는 브리징 인자와 결합한다.

- [0059] 다양한 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 FKBP 및 FKBP12-라파마이신 결합(FRB) 또는 이들의 변이체; FKBP 및 칼시뉴린 또는 이들의 변이체; FKBP 및 사이클로필린 또는 이들의 변이체; FKBP 및 박테리아 다이하이드로엽산 환원효소(DHFR) 또는 이들의 변이체; 칼시뉴린 및 사이클로필린 또는 이들의 변이체; PYR1-유사 1(PYL1) 및 아브시스산 비민감성 1(ABI1) 또는 이들의 변이체; 및 GIB1 및 GAI 또는 이들의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택되는 쌍이다.
- [0060] 특정 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인은 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하고, 제2 다량체화 도메인은 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함한다.
- [0061] 일부 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인은 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하고, 제2 다량체화 도메인은 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함한다.
- [0062] 특정 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 FRB T2098L 및 FKBP12로부터 선택되고; 브리징 인자는 AP21967이다.
- [0063] 다양한 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포르리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 및 조타로리무스로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0064] 다양한 실시형태에서, 제1 막관통 도메인 및 제2 막관통 도메인은 CD4 막관통 도메인, CD8 α 막관통 도메인, 암니온리스(AMN) 막관통 도메인, CD28 막관통 도메인, CD154 막관통 도메인 및 CD71 막관통 도메인으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.
- [0065] 일부 실시형태에서, 제1 막관통 도메인 및 제2 막관통 도메인은 CD4 막관통 도메인 및 CD8 α 막관통 도메인으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.
- [0066] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 동일하다.
- [0067] 다양한 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 상이하다.
- [0068] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인과 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체 또는 톨-유사 수용체로부터 단리된다.
- [0069] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0070] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0071] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0072] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0073] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0074] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0075] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0076] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0077] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0078] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고,

상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

- [0079] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0080] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0081] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RL2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0082] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IL-1RL2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0083] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0084] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 IFNAR1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0085] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 상기 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는.
- [0086] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR2 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0087] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR3 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR3 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0088] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR4 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR4 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0089] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR5 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR5 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0090] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR6 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR6 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0091] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR7 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR7 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0092] 일부 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR8 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR8 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0093] 특정 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR9 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR9 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0094] 다양한 실시형태에서, 제1 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR10 세포내 신호전달 도메인을 포함하고, 제2 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인은 TLR10 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0095] 특정 실시형태에서, 조성물은 세포를 추가로 포함한다.
- [0096] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드 복합체가 제공된다.
- [0097] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 융합 폴리펩타이드 또는 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다.
- [0098] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 융합 폴리펩타이드 또는 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 cDNA가 제공된다.
- [0099] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 융합 폴리펩타이드 또는 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 암호화하는 RNA가 제공된다.

- [0100] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터가 제공된다.
- [0101] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 융합 폴리펩타이드, 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 또는 벡터를 포함하는 세포가 제공된다.
- [0102] 특정 실시형태에서, 세포는 조혈세포이다.
- [0103] 다양한 실시형태에서, 세포는 T 세포이다.
- [0104] 일부 실시형태에서, 세포는 CD3+, CD4+ 및/또는 CD8+ 세포이다.
- [0105] 다양한 실시형태에서, 세포는 면역 효과기 세포이다.
- [0106] 특정 실시형태에서, 세포는 세포독성 T 림프구(cytotoxic T lymphocyte: CTL), 종양 침윤성 림프구(tumor infiltrating lymphocyte: TIL) 또는 헬퍼 T 세포이다.
- [0107] 일부 실시형태에서, 세포는 자연 살해(natural killer: NK) 세포 또는 자연 살해 T(natural killer T: NKT) 세포이다.
- [0108] 특정 실시형태에서, 세포의 공급원은 말초혈액 단핵세포, 골수, 림프절 조직, 체대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉수, 비장 조직, 또는 종양이다.
- [0109] 다양한 실시형태에서, 세포는 조작된 항원 수용체를 추가로 포함한다.
- [0110] 특정 실시형태에서, 조작된 항원 수용체는 조작된 T 세포 수용체(T cell receptor: TCR), 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor: CAR), DARIC 수용체 또는 이들의 성분, 및 키메라 사이토카인 수용체로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0111] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 융합 폴리펩타이드, 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 또는 세포를 포함하는 조성물이 제공된다.
- [0112] 다양한 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 본 명세서에 상정된 융합 폴리펩타이드, 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 또는 세포를 포함하는 조성물을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0113] 다양한 실시형태에서, 유효량의 본 명세서에 상정된 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 치료가 필요한 대상체의 치료 방법이 제공된다.
- [0114] 다양한 실시형태에서, 유효량의 본 명세서에 상정된 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환, 및 면역결핍, 또는 이들과 연관된 병태의 적어도 하나의 증상을 치료, 예방 또는 개선시키는 방법이 제공된다.
- [0115] 다양한 실시형태에서, 유효량의 본 명세서에 상정된 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 고형암의 치료 방법이 제공된다.
- [0116] 특정 실시형태에서, 고형암은 간암, 췌장암, 폐암, 유방암, 난소암, 전립선암, 고환암, 방광암, 뇌암, 육종, 두경부암, 골암, 갑상선암, 신장암 또는 피부암을 포함한다.
- [0117] 특정 실시형태에서, 고형암은 췌장암, 폐암 또는 유방암이다.
- [0118] 다양한 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 유효량의 본 명세서에 상정된 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 혈액학적 악성종양을 치료하는 방법을 상정한다.
- [0119] 특정 실시형태에서, 혈액학적 악성종양은 백혈병, 림프종 또는 다발성 골수종이다.

도면의 간단한 설명

- [0120] **도 1a**는 IL-18R DARIC 및 IL-18R DARIC-GFP 작제물 및 폴리펩타이드의 카톤을 도시한 도면.
- 도 1b**는 IL-18R-DARIC-GFP를 암호화하는 LVV로 형질도입된 공여자 PBMC에서의 GFP 발현을 도시한 도면.
- 도 1c**는 비형질도입 공여자 PBMC 및 IL-18R-DARIC-GFP를 암호화하는 LVV로 형질도입된 PBMC에 대한 성장 곡선을 도시한 도면.

도 1d는 비형질도입 공여자 PBMC 및 IL-18R-DARIC-GFP를 암호화하는 LVV로 형질도입된 PBMC에서의 CD62L 및 CD45Ra 발현을 도시한 도면.

도 2는 비형질도입 공여자 PBMC 및 IL-18R-DARIC-GFP를 암호화하는 LVV로 형질도입한 PBMC에서의 IFN γ 생성을 나타내고, 50ng/ml 인간 재조합 IL-12와 함께 24시간 동안 전처리하고, 이어서, 배지 단독, 100ng/ml 인간 재조합 IL-18이 있는 배지 또는 1 nM 라파마이신이 있는 배지에서 후속적으로 배양시킨 것을 도시한 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

서열 식별자의 간단한 설명

서열번호 1은 IL-18R DARIC 신호전달 성분에 대한 아미노산 서열을 제시한다.

서열번호 2는 IL-18R DARIC 신호전달 성분에 대한 아미노산 서열을 제시한다.

서열번호 3은 IL-18R DARIC 결합 성분에 대한 아미노산 서열을 제시한다.

서열번호 4는 IL-18R DARIC 결합 성분에 대한 아미노산 서열을 제시한다.

서열번호 5는 바이러스 P2A 도메인에 의해 분리되는 IL-18R DARIC 결합 성분 및 신호전달 성분을 포함하는 IL-18R DARIC 폴리단백질에 대한 아미노산 서열을 제시한다.

서열번호 6은 바이러스 P2A 도메인에 의해 각각 분리되는 IL-18R DARIC 결합 성분, 신호전달 성분, 및 GFP를 포함하는 IL-18R DARIC -GFP 폴리단백질에 대한 아미노산 서열을 제시한다.

서열번호 7 내지 17은 다양한 링커의 아미노산 서열을 제시한다.

서열번호 18 내지 42는 프로테아제 절단 부위 및 자기-절단성 폴리펩타이드 절단 부위의 아미노산 서열을 제시한다.

상세한 설명

A. 개요

본 개시내용은 일반적으로 폴리펩타이드를 발현시키는 세포에 면역자극 신호를 전달하는 화학적으로 조절 가능한 폴리펩타이드에 관한 것이다. 임의의 특정 이론에 의해 구속되는 일 없이, 본 명세서에 상정된 폴리펩타이드는 면역 효과기 세포 활성화 및 기능을 자극하는 하나 이상의 면역자극 엔도도메인에 연결된 화학적으로 유도성인 다량체화 도메인을 포함하는 융합 폴리펩타이드이다. 융합 폴리펩타이드의 다량체화 및 활성화를 유도하는 인자의 존재 하에 면역 효과기 세포에서 면역자극 융합 폴리펩타이드의 공동발현은 전염증 사이토카인 분비를 회복시키거나 증가시킴으로써 TME의 면역억제 영향에 대한 세포 내성을 제공한다. 특정 바람직한 실시형태에서, 융합 폴리펩타이드는 DARIC 면역 수용체로서 지칭된다.

다양한 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 화학적 신호를 면역 수용체의 세포내 도메인의 다량체화를 통해 또는 다량체화에 의해 매개되는 면역자극으로 전환시키는 폴리펩타이드를 상정한다.

다양한 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 화학적 신호를 사이토카인 수용체의 세포내 도메인의 다량체화를 통해 또는 다량체화에 의해 매개되는 면역자극으로 전환시키는 폴리펩타이드를 상정한다.

다양한 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 화학적 신호를 인터류킨 수용체의 세포내 도메인의 다량체화를 통해 또는 다량체화에 의해 매개되는 면역자극으로 전환시키는 폴리펩타이드를 상정한다.

다양한 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 화학적 신호를 패턴 인식 수용체의 세포내 도메인의 다량체화를 통해 또는 다량체화에 의해 매개되는 면역자극으로 전환시키는 폴리펩타이드를 상정한다.

다양한 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 화학적 신호를 톨-유사 수용체의 세포내 도메인의 다량체화를 통해 또는 다량체화에 의해 매개되는 면역자극으로 전환시키는 폴리펩타이드를 상정한다.

특정 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 유도성 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 하나 이상의 면역 수용체의 하나 이상의 세포내 도메인; 및 다른 유도성 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 하나 이상의 면역 수용체의 하나 이상의 세포내 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 상정한다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드는 폴리펩타이드 절단 신호, 예를 들어, 2A 폴리펩타이드 절단 신호에 의해 서로 연결된다.

- [0139] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은, 부분적으로, 유도성 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 하나 이상의 면역 수용체의 하나 이상의 세포내 도메인을 포함하는 폴리펩타이드; 및 다른 유도성 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 하나 이상의 면역 수용체의 하나 이상의 세포내 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 발현시키는, 면역 효과기 세포, 예를 들어, CAR T 세포 또는 조작된 TCR T 세포를 상정한다.
- [0140] 특정 실시형태에서, 막관통 도메인은 면역 효과기 세포 상에서 발현된 수용체로부터 단리되고; 세포내 신호전달 도메인은 IL-12 수용체, IL-7 수용체, IL-15 수용체, IL-21 수용체, IL-2 수용체, IL-1 수용체, IL-18 수용체, IL-36 수용체, I형 IFN 수용체, TLR1 수용체, TLR2 수용체, TLR3 수용체, TLR4 수용체, TLR5 수용체, TLR6 수용체, TLR7 수용체, TLR8 수용체, TLR9 수용체 또는 TLR10 수용체로부터 단리된다.
- [0141] 특정 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 IL-12R β 2, IL-7R α , IL-2R γ , IL-2R β , IL-21R, IL-18R1, IL-18RAP, IL-1R1, IL-1RAP, IFNAR1, IFNAR2, IL-1RL2, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR10으로부터 단리된다.
- [0142] 재조합(즉, 조작된) DNA, 펩타이드 및 올리고뉴클레오타이드 합성에 대한 기법, 면역분석, 조직 배양물, 형질전환(예를 들어, 전기천공법, 리포펙션), 효소 반응, 정제 및 관련된 기법 및 절차는 본 명세서 전체적으로 인용되고 논의되는 미생물학, 분자 생물학, 생화학, 분자 유전학, 세포 생물학, 바이러스학 및 면역학의 다양한 일반적이고 더 구체적인 참고문헌에 기재되어 있는 바와 같이 일반적으로 수행될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, updated July 2008); *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Glover, *DNA Cloning: A Practical Approach*, vol. I & II (IRL Press, Oxford Univ. Press USA, 1985); *Current Protocols in Immunology* (Edited by: John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober 2001 John Wiley & Sons, NY, NY); *Real-Time PCR: Current Technology and Applications*, Edited by Julie Logan, Kirstin Edwards and Nick Saunders, 2009, Caister Academic Press, Norfolk, UK; Anand, *Techniques for the Analysis of Complex Genomes*, (Academic Press, New York, 1992); Guthrie and Fink, *Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology* (Academic Press, New York, 1991); *Oligonucleotide Synthesis* (N. Gait, Ed., 1984); *Nucleic Acid The Hybridization* (B. Hames & S. Higgins, Eds., 1985); *Transcription and Translation* (B. Hames & S. Higgins, Eds., 1984); *Animal Cell Culture* (R. Freshney, Ed., 1986); Perbal, *A Practical Guide to Molecular Cloning* (1984); *Next-Generation Genome Sequencing* (Janitz, 2008 Wiley-VCH); *PCR Protocols (Methods in Molecular Biology)*(Park, Ed., 3rd Edition, 2010 Humana Press); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press, 1986); the treatise, *Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells* (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Harlow and Lane, *Antibodies*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1998); *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I-IV (D. M. Weir and CC Blackwell, eds., 1986); Roitt, *Essential Immunology*, 6th Edition, (Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988); *Current Protocols in Immunology* (Q. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach and W. Strober, eds., 1991); *Annual Review of Immunology*]뿐만 아니라 문헌 [*Advances in Immunology*]과 같은 학술지의 모노그래프를 참조한다.
- [0143] **B. 정의**
- [0144] 본 명세서에서 더 상세하게 제시하기 전에, 본 명세서에서 사용되는 특정 용어의 정의를 제공하는 것이 이의 이해에 도움이 될 수 있다.
- [0145] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 명세서에 기재된 것과 유사한 또는 동등한 임의의 방법 및 물질이 특정 실시형태의 실행 또는 시험에서 사용될 수 있지만, 조성물, 방법 및 물질의 바람직한 실시형태가 본 명세서에 기재된다. 본 개시내용의 목적을 위해, 다음의 용어를 이하에 정의한다.
- [0146] 단수의 항목은 본 명세서에서 항목의 문법적 대상의 하나 이상(즉, 적어도 하나, 또는 하나 이상)을 지칭하기 위해 사용된다. 예로서, "요소"는 하나의 요소 또는 하나 이상의 요소를 의미한다.

- [0147] 대안의(예를 들어, "또는")의 사용은 대안 중 하나, 둘 다, 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0148] 용어 "및/또는"은 대안 중 하나, 또는 둘 다를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0149] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약" 또는 "대략"은 기준 양, 수준, 값, 숫자, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이에 대해 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1%만큼 변하는 기준 양, 수준, 값, 숫자, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이를 지칭한다. 일 실시형태에서, 용어 "약" 또는 "대략"은 기준 양, 수준, 값, 숫자, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이에 대해 $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 9\%$, $\pm 8\%$, $\pm 7\%$, $\pm 6\%$, $\pm 5\%$, $\pm 4\%$, $\pm 3\%$, $\pm 2\%$ 또는 $\pm 1\%$ 의 기준 양, 수준, 값, 숫자, 빈도, 백분율, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이의 범위를 지칭한다.
- [0150] 본 명세서 전체적으로, 문맥에서 달리 요구되지 않는 한, 단어 "포함하다(comprise)", "포함하다(comprises)" 및 "포함하는(comprising)"은 단계들 또는 요소들의 언급된 단계 또는 요소 또는 그룹의 포함하지만, 임의의 다른 단계 또는 요소 또는 단계들의 제외는 아니라는 것을 나타내는 것으로 이해될 것이다. "이루어진"은 어구 "이루어진"에 따르는 것을 포함하지만, 이것으로 제한되지 않음을 의미한다. 따라서, 어구 "이루어진"은 열거된 요소가 필요하거나 또는 필수라는 것, 다른 요소가 존재하지 않을 수도 있다는 것을 나타낸다. "본질적으로 이루어진"은 어구 다음에 열거된 임의의 요소를 포함하며, 열거된 요소에 대해 본 개시내용에서 구체화된 활성 또는 작용을 방해하지 않거나 또는 기여하지 않는 다른 요소로 제한되지 않음을 의미한다. 따라서, 어구 "본질적으로 이루어진"은 열거된 요소가 필요하거나 또는 필수이지만, 열거된 요소의 활성 또는 작용에 실질적으로 영향을 미치는 다른 요소가 존재하지 않는다는 것을 나타낸다.
- [0151] 본 명세서 전체적으로 "일 실시형태", "실시형태", "특정 실시형태", "관련된 실시형태", "특정 실시형태", "추가적인 실시형태" 또는 "추가 실시형태" 또는 이들의 조합에 대한 언급은 실시형태와 관련하여 기재된 특정 특성, 구조 또는 특징이 적어도 일 실시형태에 포함된다는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체적으로 다양한 곳에서 앞서 언급한 어구의 출현은 반드시 모두 동일한 실시형태에 관한 것은 아니다. 더 나아가, 특정 특성, 구조 또는 특징은 하나 이상의 실시형태에서 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다. 또한 일 실시형태에서 특징의 긍정적 인용은 특정 실시형태에서의 특성을 제외하기 위한 기초로서 작용한다는 것이 이해된다.
- [0152] "항원(Ag)"은 동물에게 주사 또는 흡수되는 조성물(예컨대 암-특이적 단백질을 포함하는 것)을 비롯한, 동물에서의 항체 생성 또는 T 세포 반응을 자극할 수 있는 화합물, 조성물 또는 물질을 지칭한다. 예시적 항원은 지질, 탄수화물, 다당류, 당단백질, 펩타이드 또는 핵산을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 항원은 이중성 항원, 예컨대 개시된 항원에 의해 유도되는 것을 포함하는, 특정 체액성 또는 세포성 면역의 산물과 반응한다.
- [0153] "표적 항원" 또는 "관심 대상의 표적 항원"은 본 명세서에 상정된 결합 도메인이 결합하도록 설계된 항원이다. 특정 실시형태에서, 표적 항원은 알파 염산 수용체, 5T4, $\alpha\beta 6$ 인테그린, BCMA, B7-H3, B7-H6, CAIX, CD16, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD37, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD70, CD79a, CD79b, CD123, CD138, CD171, CEA, CSPG4, EGFR, ErbB2(HER2)를 포함하는 EGFR 패밀리, EGFRvIII, EGP2, EGP40, EPCAM, EphA2, EpCAM, FAP, 태아 AchR, FR α , GD2, GD3, 글리피칸-3(GPC3), HLA-A1+MAGE1, HLA-A2+MAGE1, HLA-A3+MAGE1, HLA-A1+NY-ESO-1, HLA-A2+NY-ESO-1, HLA-A3+NY-ESO-1, IL-11R α , IL-13R $\alpha 2$, 램다, Lewis-Y, 카파, 메소텔린, Muc1, Muc16, NCAM, NKG2D 리간드, NY-ESO-1, PRAME, PSCA, PSMA, ROR1, SSX, 서비빈, STn, TAG72, TEMs, VEGFR2 및 WT-1로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 실시형태에서, 항원은 MHC-펩타이드 복합체, 예컨대 클래스 I MHC-펩타이드 복합체 또는 클래스 II MHC-펩타이드 복합체이다.
- [0154] "항체"는 항원 에피토프, 예컨대 항원 결정소, 예컨대 면역 세포에 의해 인식되는 것을 함유하는 지질, 탄수화물, 다당류, 당단백질, 펩타이드 또는 핵산을 특이적으로 인식하고 결합하는 적어도 경쇄 또는 중쇄 면역글로불린 가변 영역을 포함하는 폴리펩타이드인 결합체를 지칭한다.
- [0155] "에피토프" 또는 "항원 결정소"는 결합체가 결합하는 항원의 영역을 지칭한다.
- [0156] 항체는 이의 항원 결합 단편, 예컨대 나타 Ig, 라마 Ig, 알파카 Ig, Ig NAR, Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, 이중특 이성 Fab 이량체(Fab₂), 삼중특이성 Fab 삼량체(Fab₃), Fv, 단일쇄 Fv 단백질("scFv"), 비스-scFv, (scFv)₂, 미니바디, 다이어바디(diabody), 트라이어바디(triabody), 테트라바디, 이황화물 안정화된 Fv 단백질("dsFv"), 및 단일-도메인 항체(sdAb, 낙타과 VHH, 나노바디) 및 항원 결합을 초래하는 전장 항체의 부분을 포함한다. 상기 용어는 또한 유전자 조작된 형태, 예컨대 키메라 항체(예를 들어, 인간화된 무린 항체), 이형접합체 항체(예

컨대, 이중특이성 항체) 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 또한, 문헌[Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL); Kuby, J., Immunology, 3rd Ed., W. H. Freeman & Co., New York, 1997] 참조.

[0157] "링커"는 분자의 적절한 간격 및 입체배치를 위해 첨가된 다양한 폴리펩타이드 도메인 사이의 복수의 아미노산 잔기를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 링커는 가변 영역 연결 서열이다. "가변 영역 연결 서열"은 얻어진 폴리펩타이드가 동일한 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 동일한 표적 분자에 대한 특이적 결합 친화도를 보유하도록 V_H 와 V_L 도메인을 연결하고, 2개의 서브-결합 도메인의 상호작용에 적합한 스페이서 기능을 제공하는 아미노산 서열이다. 특정 실시형태에서, 링커는 하나 이상의 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인, 힌지 도메인, 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 공자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 분리시킨다.

[0158] 본 명세서에 상정된 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 링커의 예시적 예는 다음의 아미노산 서열: GGG; DGGGS(서열번호 7); TGEKP(서열번호 8)(예를 들어, 문헌[Liu *et al.*, PNAS 5525-5530 (1997)] 참조); GGRR(서열번호 9)(Pomerantz *et al.* 1995, 상기 참조); (GGGS)_n, 여기서 n = 1, 2, 3, 4 또는 5(서열번호 10)(Kim *et al.*, PNAS 93, 1156-1160 (1996.)); EGKSSGSGSESKVD(서열번호 11)(Chaudhary *et al.*, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:1066-1070); KESGVSSEQLAQFRSLD(서열번호 12)(Bird *et al.*, 1988, Science 242:423-426), GGRRGGGS(서열번호 13); LRQRDGERP(서열번호 14); LRQKGGGSERP(서열번호 15); LRQK(GGG)₂ERP(서열번호 16)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 대안적으로, 가요성 링커는 DNA-결합 부위와 펩타이드 그 자체를 둘 다 모델링할 수 있는 컴퓨터 프로그램을 이용하여(Desjarlais & Berg, PNAS 90:2256-2260 (1993), PNAS 91:11099-11103(1994) 또는 파지 디스플레이 방법에 의해 합리적으로 설계될 수 있다. 일 실시형태에서, 링커는 다음의 아미노산 서열을 포함한다: GSTSGSGKPGSGEGSTKG(서열번호 17)(Cooper *et al.*, Blood, 101(4): 1637-1644 (2003)).

[0159] "스페이서 도메인"은 2개의 도메인을 분리시키는 폴리펩타이드를 지칭한다. 일 실시형태에서, 스페이서 도메인은 적절한 세포/세포 접촉, 항원 결합 및 활성화를 가능하게 하기 위해 효과기 세포 표면으로부터 항원 결합 도메인이 떨어지게 이동시킨다(Patel *et al.*, Gene Therapy, 1999; 6: 412-419). 특정 실시형태에서, 스페이서 도메인은 하나 이상의 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인, 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 공자극 도메인 및/또는 1차 신호전달 도메인을 분리시킨다. 스페이서 도메인은 천연, 합성, 반합성 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 스페이서 도메인은 하나 이상의 중쇄 불변 영역, 예를 들어, CH2 및 CH3을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 면역글로불린의 일부이다. 스페이서 도메인은 천연 유래 면역글로불린 힌지 영역 또는 변경된 면역글로불린 힌지 영역의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0160] "힌지 도메인"은 적절한 세포/세포 접촉, 항원 결합 및 활성화를 가능하게 하기 위해 효과기 세포 표면으로부터 항원 결합 도메인이 떨어져서 자리잡는 데 어떤 역할을 하는 폴리펩타이드를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드는 결합 도메인과 다량체화 도메인 사이, 결합 도메인과 막관통 도메인(TM) 사이 또는 다량체화 도메인과 막관통 도메인 사이에 하나 이상의 힌지 도메인을 포함할 수 있다. 힌지 도메인은 천연, 합성, 반합성 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다. 힌지 도메인은 천연 유래 면역글로불린 힌지 영역 또는 변경된 면역글로불린 힌지 영역의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0161] 본 명세서에서 사용되는 "다량체화 도메인"은 직접적으로 또는 브리징 분자, 예를 들어, 화학적으로 유도성인 이량체를 통해 다른 상이한 폴리펩타이드와 우선적으로 상호작용하거나 또는 회합하는 폴리펩타이드를 지칭하되, 상이한 다량체화 도메인의 상호작용은 다량체화(즉, 이량체, 삼량체, 또는 동종이량체, 이형이량체, 동종삼량체, 이형삼량체, 동종다량체, 이형다량체일 수 있는 다중부 복합체의 형성)에 실질적으로 기여하거나 또는 이를 효율적으로 촉진시킨다. 다량체 도메인은 천연, 합성, 반합성 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다.

[0162] 본 명세서에 상정된 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 다량체화 도메인의 예시적인 예는 FK506 결합 단백질(FKBP) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, FKBP12-라파마이신 결합(FRB) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 갈시뉴린 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 사이클로필린 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 박테리아 다이하이드로엽산 환원효소(DHFR) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, PYR1-유사 1(PYL1) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 아브시스산 비민감성 1(ABI1) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, GIB1 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 또는 GAI 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0163] 본 명세서에서 사용되는 용어 "FKBP-라파마이신 결합 폴리펩타이드"는 FRB 폴리펩타이드를 지칭한다. 특정 실시

형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FKBP12-라파마이신 결합 폴리펩타이드이다. 본 명세서에 상정된 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 FRB 폴리펩타이드는 일반적으로 적어도 약 85 내지 약 100 아미노산 잔기를 함유한다. 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 93개의 아미노산 서열 Ile-2021 내지 Lys -2113 및 제뱅크 수탁번호 L34075.1에 대해 T2098L의 돌연변이를 포함한다. 본 명세서에 상정된 FRB 폴리펩타이드는 브리징 인자를 통해 FKBP 폴리펩타이드에 결합함으로써, 삼성분 복합체(tripartite complex)를 형성한다.

- [0164] 본 명세서에서 사용되는 용어 "FK506 결합 단백질"은 FKBP 폴리펩타이드를 지칭한다. 특정 실시형태에서, FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12 폴리펩타이드이다. 특정 실시형태에서, FKBP 도메인은 또한 "라파마이신 결합 도메인"으로서 지칭될 수 있다. 다양한 FKBP 종의 뉴클레오타이드 서열, 클로닝 및 다른 양상에 관한 정보는 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Staendart *et al.*, *Nature* 346:671, 1990(human FKBP12); Kay, *Biochem. J.* 314:361, 1996] 참조). 본 명세서에 상정된 FKBP 폴리펩타이드는 브리징 인자를 통해 FRB 폴리펩타이드에 결합하여, 삼성분 복합체를 형성한다.
- [0165] "브리징 인자"는 2 이상의 다량체화 도메인과 회합되고 그 사이에 배치된 분자를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 다량체화 도메인은 브리징 인자의 존재하에서만 폴리펩타이드 복합체의 형성에 실질적으로 기여하거나 또는 이를 효율적으로 촉진시킨다. 특정 실시형태에서, 다량체화 도메인은 브리징 인자의 부재 하에서 폴리펩타이드 복합체의 형성에 기여하지 않거나 또는 이를 효율적으로 촉진시키지 않는다. 본 명세서에 상정된 특정 실시형태에서 사용하는 데 적합한 브리징 인자의 예시적 예는 AP21967, 라파마이신(시로리무스) 또는 이의 라팔로그, 쿠머마이신 또는 이의 유도체, 지베렐린 또는 이의 유도체, 아브시스산(ABA) 또는 이의 유도체, 메토티렉세이트 또는 이의 유도체, 사이클로스포린 A 또는 이의 유도체, FKCsA 또는 이의 유도체, FKBP에 대한 트라이메토프림(Tmp)-합성 리간드(SLF) 또는 이의 유도체, 또는 이들의 임의의 조합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0166] 라파마이신 유사체(라팔로그)는 라팔로그의 구조가 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 제6,649,595호에 개시된 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 브리징 인자는 라파마이신에 비해 상당히 감소된 면역억제 효과를 갖는 라팔로그이다. 바람직한 실시형태에서, 라팔로그는 AP21967(또한 C-16-(S)-7-메틸인돌라파마이신, $IC_{50} = 10nM$, 화학적으로 변형된 비-면역억제 라파마이신 유사체로서 알려짐)이다. 본 명세서에 상정된 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 다른 예시적인 라팔로그는 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 및 조타로리무스를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0167] "실질적으로 감소된 면역억제 효과"는 임상적으로 또는 인간 면역억제 활성의 적절한 시험관내(예를 들어, T 세포 증식의 저해) 또는 생체내 대용물에서 측정된 동일 용량에 대해 관찰되거나 또는 예상된 면역억제 효과의 적어도 0.1 내지 0.005배 더 적음을 지칭한다.
- [0168] "막관통 도메인" 또는 "TM 도메인"은 세포의 혈장막에 폴리펩타이드를 고정시키는 도메인이다. TM 도메인은 천연, 합성, 반합성 또는 재조합 공급원으로부터 유래될 수 있다.
- [0169] "세포내 신호전달 도메인" 또는 "엔도도메인"은 효과기 기능 신호를 전달하고 세포가 전문화된 기능을 수행하도록 지시하는 단백질의 부분을 지칭한다. 보통 전체 세포내 신호전달 도메인이 사용될 수 있다면, 다수의 경우에, 전체 도메인을 사용하는 것은 필요하지 않다. 세포내 신호전달 도메인의 절단 부분이 사용되는 정도로, 이러한 절단된 부분은 그것이 효과기 기능 신호를 전달하는 한, 전체 도메인 대신에 사용될 수 있다. 용어 세포내 신호전달 도메인은 효과기 기능 신호를 전달하는 데 충분한 세포내 신호전달 도메인의 임의의 절단된 부분을 포함하는 것을 의미한다.
- [0170] 용어 "효과기 기능" 또는 "효과기 세포 기능"은 면역 효과기 세포의 전문화된 기능을 지칭한다. 효과기 기능은 활성화, 사이토카인 생성, 증식 및 세포독성 인자의 방출을 포함하는 세포독성 활성화, 또는 면역 효과기 세포 상에서 발현된 수용체에 대한 항원 결합에 의해 유발된 다른 세포 반응을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0171] TCR 단독을 통해 생성된 신호는 T 세포의 완전한 활성화에 불충분하다는 것과 2차 또는 공자극 신호가 또한 필요하다라는 것이 공지되어 있다. 따라서, T 세포 활성화는 세포내 신호전달 도메인의 2가지 별개의 부류(TCR을 통해 항원-의존적 1차 활성화를 개시하는 1차 신호전달 도메인(예를 들어, TCR/CD3 복합체) 및 2차 또는 공자극 신호를 제공하기 위한 항원-의존적 방식으로 작용하는 공자극 신호전달 도메인)에 의해 매개되는 것으로 언급될 수 있다.
- [0172] "1차 신호전달 도메인"은 자극 방법으로 또는 저해 방법으로 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절하는 세포내 신호전달 도메인을 지칭한다. 자극 방식으로 작용하는 1차 신호전달 도메인은 면역수용체 타이로신 기반 활성화 모

티프 또는 ITAM으로서 알려진 신호전달 모티프를 함유할 수 있다. 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 1차 신호전달 도메인을 함유하는 ITAM의 예시적 예는 FcR γ , FcR β , CD3 γ , CD3 δ , CD3 ϵ , CD3 ζ , CD22, CD79a, CD79b, 및 CD66d로부터 유래된 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

- [0173] 본 명세서에서 사용되는 용어 "공자극 신호전달 도메인" 또는 "공자극 도메인"은 공자극 분자의 세포내 신호전달 도메인을 지칭한다. 공자극 분자는 항원에 대한 결합 시 T 림프구의 효율적인 활성화 및 기능에 필요한 2차 신호를 제공하는 항원 수용체 또는 Fc 수용체 이외의 세포 표면 분자이다. 공자극 도메인으로부터 단리될 수 있는 이러한 공자극 분자의 예시적 예는 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, CARD11, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CD54(ICAM), CD83, CD134(OX40), CD137(4-1BB), CD278(ICOS), DAP10, LAT, NKD2C, SLP76, TRIM 및 ZAP70을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0174] "면역 장애"는 면역계로부터 반응을 일으키는 질환을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 용어 "면역 장애"는 암, 자가면역 질환 또는 면역결핍을 지칭한다. 일 실시형태에서, 면역 장애는 감염성 질환을 포함한다.
- [0175] 본 명세서에서 사용되는 용어 "암"은 일반적으로 비정상 세포가 제어 없이 분할되고 조직 근처에서 침윤할 수 있는 질환 또는 병태의 부류에 관한 것이다.
- [0176] 본 명세서에서 사용되는 용어 "악성종양"은 종양 세포의 그룹이 제어되지 않는 성장(즉, 정상 한계 이상의 분할), 침윤(즉, 인접한 조직 상의 침범 및 파괴) 및 전이(즉, 림프 또는 혈액을 통한 신체 내 다른 위치로의 확산) 중 하나 이상을 나타내는 암을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "전이하다"는 신체의 한 부분으로부터 다른 부분까지의 암의 확산을 지칭한다. 확산을 갖는 세포에 의해 형성된 종양은 "전이성 종양" 또는 "전이"로 불린다. 전이성 종양은 본래의(원발성) 종양에서와 유사한 세포를 함유한다.
- [0177] 본 명세서에서 사용되는 용어 "양성" 또는 "비악성"은 더 크게 성장할 수 있지만, 신체의 다른 부분으로 확산되지 않는 종양을 지칭한다. 양성 종양은 자기 제한적이며, 전형적으로 침윤하거나 또는 전이하지 않는다.
- [0178] "암세포"는 암성 성장의 개개 세포 또는 조직을 지칭한다. 암세포는 고형암과 액상암을 둘 다 포함한다. "종양" 또는 "종양 세포"는 일반적으로 양성, 전악성 또는 악성일 수 있는 세포의 비정상적 성장에 의해 형성되는 팽윤 또는 병변을 지칭한다. 대부분의 암은 종양을 형성하지만, 액상암, 예를 들어, 백혈병은 반드시 종양을 형성하지는 않는다. 종양을 형성하는 해당 암에 대해, 용어 암(세포)과 종양(세포)은 상호 호환적으로 사용된다. 개체에서 종양의 양은 종양의 수, 용적 또는 중량으로서 측정될 수 있는 "종양 부담"이다.
- [0179] 용어 "재발"은 개선 또는 관해 기가나 후에 암의 복귀, 또는 복귀의 징후 및 증상의 진단을 지칭한다.
- [0180] "관해"는 또한 "임상 관해"로서 지칭되고, 부분적 관해와 완전한 관해를 둘 다 포함한다. 특정 관해에서, 모두는 아니지만 일부 암 징후 및 증상은 사라졌다. 완전한 관해에서, 암이 여전히 신체에 있을 수도 있지만, 암의 모든 징후 및 증상은 사라졌다.
- [0181] "난치성"은 특정 치료제에 의하나 요법에 대해 내성이 있거나 또는 비반응성인 암을 지칭한다. 암은 치료의 개시로부터 난치성(즉, 치료제에 대한 초기 노출에 대해 비반응성) 또는 제1 치료 기간 과정에 걸쳐 또는 후속적 치료 기간 동안에 치료제에 대해 발생하는 내성의 결과로서 난치성일 수 있다.
- [0182] "항원 음성"은 항원을 발현시키지 않거나 또는 무시할 만한 양의 검출 가능하지 않은 항원을 발현시키는 세포를 지칭한다. 일 실시형태에서, 항원 음성 세포는 항원에 관련된 수용체에 결합하지 않는다. 일 실시형태에서, 항원 음성 세포는 항원에 관련된 수용체에 실질적으로 결합하지 않는다.
- [0183] "자가면역 질환"은 신체가 그 자신의 조직의 일부 구성성분에 대해 면역원성(즉, 면역계) 반응을 생산하는 질환을 지칭한다. 다시 말해서, 면역계는 "자기" 및 표적으로서 신체 내의 일부 조직 또는 시스템을 인식하는 그의 능력을 상실하며, 그것이 외래 물질인 것처럼 공격한다. 자가면역 질환은 주로 하나의 기관이 영향받는 것(예를 들어, 용혈성 빈혈 및 항-면역 갑상선염) 및 자가면역 질환 과정이 다수의 조직을 통해 분산된 것(예를 들어, 전신 홍반 루푸스)로 분류될 수 있다. 예를 들어, 다발성 경화증은 뇌 및 척수의 신경섬유를 둘러싸는 수초를 공격하는 T 세포에 의해 야기되는 것으로 생각된다. 이는 협응의 상실, 쇠약 및 흐린 시력을 초래한다. 자가면역 질환은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병, 루푸스, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 용혈성 빈혈, 항면역 갑상선염, 전신 홍반성 루푸스, 셀리아병, 크론병, 결장염, 당뇨병, 경피증, 건선 등을 포함한다.
- [0184] "면역결핍"은 질환에 의해 또는 화학물질의 투여에 의해 면역계가 손상된 환자 상태를 의미한다. 이 병태는 시스템이 외래 물질을 방어하는 데 필요한 혈액 세포의 수 및 유형이 결여되게 한다. 면역결핍증 병태 또는 질환

은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, AIDS(후천성 면역결핍 증후군), SCID(중증 합병 면역결핍 질환), 선택적 IgA 결핍증, 공통 가변 면역결핍증, X-연관 무감마글로불린혈증, 만성 육아종성 질환, 과-IgM 증후군 및 당뇨병을 포함한다.

- [0185] "감염성 질환"은 사람 간에 또는 유기체 간에 전염될 수 있고, 미생물 또는 바이러스 제제(예를 들어, 보통 감기)에 의해 야기되는 질환을 지칭한다. 감염성 질환은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 간염, 성적으로 전염되는 질환(예를 들어, 클라미디아, 임질), 결핵, HIV/AIDS, 디프테리아, 간염 B, 간염 C, 콜레라 및 인플루엔자를 포함한다.
- [0186] 본 명세서에서 사용되는 용어 "개체" 및 "대상체"는 종종 상호 호환적으로 사용되며, 본 명세서의 다른 곳에 상정된 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 암 또는 다른 면역 장애의 증상을 나타내는 임의의 동물을 지칭한다. 적합한 대상체(예를 들어, 환자)는 실험실 동물(예컨대, 마우스, 래트, 토끼 또는 기너픽), 농장 동물 및 가축 동물 또는 반려동물(예컨대, 고양이 또는 개)을 포함한다. 비인간 영장류 및 바람직하게는 인간 환자가 포함된다. 전형적인 대상체는 암 또는 다른 면역 장애로 진단되거나 또는 암 또는 다른 면역 장애를 가질 위험에 있는 인간 환자를 포함한다.
- [0187] 본 명세서에서 사용되는 용어 "환자"는 본 명세서의 다른 곳에 개시된 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 암 또는 다른 면역 장애로 진단된 대상체를 지칭한다.
- [0188] 본 명세서에서 사용되는 "치료" 또는 "치료하는"은 질환 또는 병리적 병태의 증상 또는 병리에 대한 임의의 유리한 또는 바람직한 효과를 포함하고, 치료 중인 질환 또는 병태 중 하나 이상의 측정 가능한 마커의 심지어 최소 감소를 포함할 수 있다. 치료는 선택적으로 질환 또는 병태의 감소 또는 질환 또는 병태 진행의 지연, 예를 들어, 중앙 결과물의 지연을 수반할 수 있다. "치료"는 질환 또는 병태, 또는 이의 관련된 증상의 완전한 근절 또는 치유를 반드시 나타내지는 않는다.
- [0189] 본 명세서에서 사용하는 바와 같은, "예방하다" 및 유사한 단어, 예컨대 "예방되는", "예방하는" 등은 질환 또는 병태의 발생 또는 재발 가능성을 예방하거나, 저해하거나 또는 감소시키기 위한 접근을 나타낸다. 또한 질환 또는 병태의 개시 또는 재발을 지연시키거나 또는 질환 또는 병태의 발생 또는 재발을 지연시키는 것을 지칭한다. 본 명세서에서 사용하는 바와 같은 "예방" 및 유사한 단어는 또한 질환 또는 병태의 개시 또는 재발 전에 질환 또는 병태의 강도, 효과, 증상 및/또는 부담을 감소시키는 것을 포함한다.
- [0190] 본 명세서에서 사용되는 어구 "의 적어도 하나의 증상을 개선시키는"은 대상체에 대해 치료 중인 질환 또는 병태의 하나 이상의 증상을 감소시키는 것을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 치료 중인 질환 또는 병태는 암이되, 개선될 하나 이상의 증상은 쇠약, 피로, 숨가쁨, 잦은 명 및 출혈, 빈번한 감염, 림프절 비대, 복부 팽창 또는 복부 통증(팽창된 복부 기관에 기인), 뼈 또는 관절 통증, 골절, 계획하지 않은 체중 감소, 식욕 부진, 도한, 지속적 미열 및 감소된 배뇨작용(손상된 신장 기능에 기인)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0191] "향상시키다" 또는 "촉진시키다" 또는 "증가시키다" 또는 "확장하다" 또는 "강화하다"는 일반적으로 비히클 또는 대조군 중 하나에 의해 야기되는 반응에 비해 더 큰 반응 생리적 반응(즉, 하류 효과)을 생산하거나, 유발하거나 또는 야기하기 위한 본 명세서에 상정된 조성물의 능력을 지칭한다. 측정 가능한 생리적 반응은, 특히 당업계 및 본 명세서의 설명에서의 이해로부터 분명한 T 세포 확장, 활성화, 지속성, 사이토카인 분비의 증가 및/또는 암 세포 사멸 능력의 증가를 포함할 수 있다. "증가된" 또는 "향상된" 양은 전형적으로 "통계적으로 유의한" 양이고, 비히클 또는 대조군에 의해 생산되는 반응의 1.1, 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30배 이상(예를 들어, 500, 1000배)(그 사이의 그리고 1 초과의 모든 정수 및 소수점을 포함, 예를 들어, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8 등)인 증가를 포함할 수 있다.
- [0192] "감소시키다" 또는 "낮추다" 또는 "줄이다" 또는 "줄어들게 하다" 또는 "없애다"는 일반적으로 비히클 또는 대조군 중 하나에 의해 야기되는 반응에 비해 더 적은 생리적 반응(즉, 하류 효과)을 생산하거나, 유발하거나 또는 야기하기 위한 본 명세서에 상정된 조성물의 능력을 지칭한다. "감소된" 또는 "줄어든" 양은 전형적으로 "통계적으로 유의한" 양이며, 비히클 또는 대조군 조성물에 의해 생산된 반응(기준 반응) 또는 특정 세포 계통에서의 반응의 1.1, 1.2, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30배 이상(예를 들어, 500, 1000배)(그 사이의 그리고 1 초과의 모든 정수 및 소수점을 포함, 예를 들어, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8 등)인 감소를 포함할 수 있다.
- [0193] "유지하다" 또는 "보존하다" 또는 "유지" 또는 "변화 없음" 또는 "통계학적 변화 없음" 또는 "실질적 감소 없음"은 일반적으로 비히클, 대조군 분자/조성물에 의해 야기되는 반응, 또는 특정 세포 계통에서의 반응에 비

해, 세포에서 실질적으로 유사한 또는 비슷한 생리적 반응(즉, 하류 효과)를 생산하거나, 유발하거나 또는 야기하는 본 명세서에 상정된 조성물의 능력을 지칭한다. 비슷한 반응은 기준 반응과 유의하게 다르지 않거나 또는 측정 가능하게 다르지 않은 것이다.

- [0194] 추가적인 정의는 본 개시내용 전체적으로 제시된다.
- [0195] **C.DARIC 면역 수용체**
- [0196] 특정 실시형태에서, 브리징 인자에 노출 시 면역 자극 신호를 전달하는 하나 이상의 DARIC 면역 수용체가 상정된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "DARIC 면역 수용체"는 다량체화제 또는 브리징 인자에 대한 노출 시, 예를 들어, 면역 효과기 세포 활성화 및 기능의 자극, 전염증 사이토카인의 생성 및/또는 분비 증가 시 면역 효과기 세포에서 면역자극 신호를 전달하는 하나 이상의 비천연 유래 폴리펩타이드를 지칭한다.
- [0197] 특정 실시형태에서, DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 면역 수용체, 예를 들어, 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체, 및 톨-유사 수용체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 인간 면역 수용체의 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 면역 수용체, 예를 들어, 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체 및 톨-유사 수용체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 인간 면역 수용체의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 폴리펩타이드이다.
- [0198] 다른 특정 실시형태에서, DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체 및 톨-유사 수용체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 면역 수용체의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체 및 톨-유사 수용체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 면역 수용체의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 제2 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다.
- [0199] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역 수용체"는 동족 리간드에 결합 시 면역 반응을 조절하는 면역 세포의 표면에 발현된 수용체를 지칭한다. 특정 실시형태를 사용하기에 적합한 면역 수용체는 사이토카인 수용체, 인터류킨 수용체, 패턴 인식 수용체, 및 톨-유사 수용체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않되, 면역 수용체를 통한 신호전달은 면역 반응을 자극한다.
- [0200] 본 명세서에 상정된 특정 DARIC 면역 수용체에서 사용하기에 적합한 다량체화 도메인의 예시적인 예는 FK506 결합 단백질(FKBP) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, FKBP12-라파마이신 결합(FRB) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 칼시뉴린 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 사이클로필린 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 박테리아 다이하이드로엽산 환원효소(DHFR) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, PYR1-유사 1(PYL1) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 아브시스산 비민감성 1(ABI1) 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, GIB1 폴리펩타이드 또는 이의 변이체 또는 GAI 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0201] 본 명세서에 상정된 특정 DARIC 면역 수용체에서 사용하기에 적합한 면역 수용체 막관통 도메인의 예시적인 예는 T-세포 수용체의 알파, 베타, 감마 또는 델타쇄, CD3 ϵ , CD3 ζ , CD4, CD5, CD8 α , CD9, CD 16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, AMN, PD1, IL-12R β 2, IL-7R α , IL-2R γ , IL-2R β , IL-21R, IL-18R1, IL-18RAP, IL-1R1, IL-1RAP, IFNAR1, IFNAR2, IL-1RL2, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR10의 막관통 영역(들)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0202] 본 명세서에 상정된 특정 DARIC 면역 수용체에서 사용하기에 적합한 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인의 예시적인 예는 IL-12 수용체, IL-7 수용체, IL-15 수용체, IL-21 수용체, IL-2 수용체, IL-1 수용체, IL-18 수용체, IL-36 수용체, I형 IFN 수용체, TLR1 수용체, TLR2 수용체, TLR3 수용체, TLR4 수용체, TLR5 수용체, TLR6 수용체, TLR7 수용체, TLR8 수용체, TLR9 수용체 또는 TLR10 수용체로부터 단리된 세포내 신호전달 도메인을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0203] 본 명세서에 상정된 특정 DARIC 면역 수용체에서 사용하기에 적합한 면역 수용체 세포내 신호전달 도메인의 예시적인 예는 IL-12R β 2, IL-7R α , IL-2R γ , IL-2R β , IL-21R, IL-18R1, IL-18RAP, IL-1R1, IL-1RAP, IFNAR1, IFNAR2, IL-1RL2, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR10을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0204] 본 명세서에 상정된 특정 DARIC 면역 수용체에서 사용하기에 적합한 사이토카인 수용체 세포내 신호전달 도메인

의 예시적인 예는 IL-12R β 2, IL-7R α , IL-2R γ , IL-2R β , IL-21R, IL-18R1, IL-18RAP, IL-1R1, IL-1RAP, IFNAR1, IFNAR2 및 IL-1RL2를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

- [0205] 본 명세서에 상정된 특정 DARIC 면역 수용체에서 사용하기에 적합한 인터류킨 수용체 세포내 신호전달 도메인의 예시적인 예는 IL-12R β 2, IL-7R α , IL-2R γ , IL-2R β , IL-21R, IL-18R1, IL-18RAP, IL-1R1, IL-1RAP 및 IL-1RL2를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0206] 본 명세서에 상정된 특정 DARIC 면역 수용체에 사용하기에 적합한 톨-유사 수용체 세포내 신호전달 도메인의 예시적인 예는 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 및 TLR10을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0207] **1. IL-18 DARIC 면역 수용체**
- [0208] 인터류킨-18(IL-18)은 IFN γ 발현을 증가시키고, T 세포 증식을 증가시키며, 활성화 유도 세포사(AICD)에 대해 보호함으로써 T 세포 기능 및 활성을 촉진시키는 사이토카인이다. IL-18은 인터류킨 18 수용체 1(IL-18R1, CD218a로도 알려짐) 및 인터류킨 18 수용체 부속 단백질(IL-18RAP, CD218b)에 결합한다.
- [0209] IL-18R1 및 IL-18RAP를 통한 IL-18 신호전달은 MyD88 어댑터 단백질 및 IRAK4 인산화를 통해 활성화를 야기한다. IRAK4의 인산화 및 IRAK1/2의 후속적 인산화는 궁극적으로 IFN γ 발현을 증가시키고 IL-12에 대한 민감성을 증가시키기 위해 NF- κ B 및 AP-1 전사 인자의 활성화를 야기한다. IL-18에 의해 유도되는 전사 프로그램은 또한 T 세포 증식을 증가시키고, AICD에 대해 보호한다.
- [0210] 다양한 실시형태에서, 조작된 항원 수용체를 발현시키는 면역 효과기 세포를 포함하는 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-18 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다. 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-18 DARIC 면역 수용체 및 조작된 항원 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다.
- [0211] 특정 실시형태에서, IL-18 DARIC 면역 수용체는 브리징 인자에 노출 시 IL-18-매개 면역자극 신호를 전달한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-18 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-18 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0212] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드; 더 바람직하게는, 바이러스 자기-절단성 2A 폴리펩타이드; 및 더 바람직하게는 구제역 바이러스(FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 너십근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 P2A 또는 T2A 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다.
- [0213] 특정 실시형태에서, IL-18 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인, 및 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인, 및 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드의 복합체이다. 특정 실시형태에서, IL-18 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인, 및 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인, 및 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다.
- [0214] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 CD4, CD5, CD8 α , CD9, CD 16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, AMN 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0215] 일 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.
- [0216] 특정 실시형태에서, IL-18 DARIC 면역 수용체는 FKBP와 FRB, FKBP와 칼시뉴린, FKBP와 사이클로필린, FKBP와 박테리아 DHFR, 칼시뉴린과 사이클로필린, PYL1과 ABI1, 또는 GIB1과 GAI, 또는 이들의 변이체로부터 선택된 쌍으로부터 선택되는 제1 다량체화 도메인 또는 제2 다량체화 도메인을 포함한다.

- [0217] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인, 및 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인, 및 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0218] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인, 및 IL-18R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인, 및 IL-18RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0219] 일부 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포로리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 또는 조타로리무스이다.
- [0220] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB T2098L이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 AP21967이다.
- [0221] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 라파마이신, 템시로리무스 또는 에베로리무스이다.
- [0222] **2. IL-12 DARIC 면역 수용체**
- [0223] 인터류킨-12(IL-12)는 부분적으로, IFN γ 발현을 증가시키고, T 세포 증식을 증가시키며, IL-12 신호전달을 강력하게 함으로써 T 세포 기능 및 활성을 촉진시키는 사이토카인이다. IL-12는 인터류킨 12 수용체, 베타 1(CD212로도 알려진 IL-12R β 1) 및 인터류킨 12 수용체, 베타 2(IL-12R β 2)에 결합한다.
- [0224] IL-12R β 1 및 IL-12R β 2를 통한 IL-12 신호전달은 STAT3, STAT4 및 STAT5 인산화를 초래한다. 인산화된 STAT3/STAT4는 핵으로 전위되고, IFN γ 발현을 증가시키기 위해 IFN γ 프로모터에 결합한다. 인산화된 STAT4는 또한 IL-12R β 2의 전사를 증가시킴으로써 IFN γ 발현을 증가시키고 IL-12 신호전달을 강력하도록 Jun 종양유전자(c-Jun)를 IFN γ 프로모터에 보충한다. STAT5 인산화는 T 세포 증식을 증가시킨다.
- [0225] IL-12 신호전달은 또한 IL-2R의 프로모터에 STAT4 및 c-Jun을 보충하여, T 세포 증식을 향상시킴으로써 인터류킨 2 수용체, 알파(IL-2R)의 발현을 증가시킨다.
- [0226] 다양한 실시형태에서, 조작된 항원 수용체를 발현시키는 면역 효과기 세포를 포함하는 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-12 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다. 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-12 DARIC 면역 수용체 및 조작된 항원 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다.
- [0227] 특정 실시형태에서, IL-12 DARIC 면역 수용체는 브리징 인자에 대한 노출 시 IL-12-매개 면역자극 신호를 전달한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-12 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-12 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0228] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드; 더 바람직하게는, 바이러스 자기-절단성 2A 폴리펩타이드; 및 더 바람직하게는 구제역 바이러스(FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 뇌심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 P2A 또는 T2A 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다.
- [0229] 특정 실시형태에서, IL-12 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인, 및 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인, 및 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 폴리펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드의 복합체이다. 특정 실시형태에서, IL-12 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인, 및 IL-12R β 2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인, 및 IL-12R β 1 세포내 신호전달 도메인을 포

함하는, 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다.

- [0230] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 CD4, CD5, CD8 α, CD9, CD 16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, AMN 및 PD1로 이루어진 군 으로부터 선택된다.
- [0231] 일 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.
- [0232] 특정 실시형태에서, IL-12 DARIC 면역 수용체는 FKBP와 FRB, FKBP와 칼시뉴린, FKBP와 사이클로필린, FKBP와 박테리아 DHFR, 칼시뉴린과 사이클로필린, PYL1과 ABI1, 또는 GIB1과 GAI, 또는 이들의 변이체로부터 선택된 쌍 으로부터 선택되는 제1 다량체화 도메인 또는 제2 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0233] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인, 및 IL-12R β1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩 타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인, 및 IL-12R β2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다 량체화 도메인을 포함한다.
- [0234] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-12R β1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타 이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-12R β2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량 체화 도메인을 포함한다.
- [0235] 일부 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포르 리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 또는 조타로리무스이다.
- [0236] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB T2098L이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이고; 브리징 인자는 AP21967이다.
- [0237] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 라파마이신, 템시로리무스 또는 에베로리무스이다.

[0238] **3. IL-7 DARIC 면역 수용체**

- [0239] 인터류킨-7(IL-7)은 T 세포 전구체 생존 및 증식을 부분적으로 개선시킴으로써 T 세포 기능 및 활성을 촉진시키 는 사이토카인이다. IL-7은 인터류킨 7 수용체 알파(IL-7R α, CD127로도 알려짐) 및 인터류킨 2 수용체, 공통 감마쇄(IL-2R γ, CD132 및 γ c로도 알려짐)에 결합한다. IL-7 신호전달은 JAK/STAT, PI-3K 및 Src 키나제 경로 를 활성화하고, 항-세포자멸사 유전자 및 T 세포 전구체의 증식을 촉진시키는 유전자의 전사를 초래한다.
- [0240] 다양한 실시형태에서, 조작된 항원 수용체를 발현시키는 면역 효과기 세포를 포함하는 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-7 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형 된다. 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-7 DARIC 면역 수용체 및 조작된 항원 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다.
- [0241] 특정 실시형태에서, IL-7 DARIC 면역 수용체는 브리징 인자에 대한 노출 시 IL-7-매개 면역자극 신호를 전달한 다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-7 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL- 2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-7 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다 량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0242] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드; 더 바람직하게는, 바이러스 자기-절단성 2A 폴리펩타이드; 및 더 바람직하게는 구제역 바이러스(FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스 (ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(PTV-1)(P2A) 펩 타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 뇌심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이 러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 P2A 또는 T2A 바이러스 자기- 절단성 폴리펩타이드이다.
- [0243] 특정 실시형태에서, IL-7 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 IL-7R α 세포내 신 호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인, 및 IL-2R γ 세포내

신호전달 도메인을 포함하는, 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다. 특정 실시형태에서, IL-7 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인, 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인, 및 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다.

- [0244] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인 및 제2 막관통 도메인은 CD4, CD5, CD8 α , CD9, CD 16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, AMN 및 PD1로 이루어진 군 으로부터 선택된다.
- [0245] 일 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.
- [0246] 특정 실시형태에서, IL-7 DARIC 면역 수용체는 FKBP와 FRB, FKBP와 칼시뉴린, FKBP와 사이클로필린, FKBP와 박 테리아 DHFR, 칼시뉴린과 사이클로필린, PYL1과 ABI1, 또는 GIB1과 GAI, 또는 이들의 변이체로부터 선택되는 쌍 으로부터 선택되는 제1 다량체화 도메인 또는 제2 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0247] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인, 및 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타 이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체 화 도메인을 포함한다.
- [0248] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-7R α 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이 드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0249] 일부 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포르 리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 또는 조타로리무스이다.
- [0250] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB T2098L이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 AP21967이다.
- [0251] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 라파마이신, 템시로리무스 또는 에베로리무스이다.
- [0252] **4. IL-15 DARIC 면역 수용체**
- [0253] 인터류킨-15(IL-15)는 T 세포 전구체 생존 및 증식을 부분적으로 개선시킴으로써 T 세포 기능 및 활성을 촉진시 키는 사이토카인이다. IL-15는 IL-15R α (CD215로도 알려짐)에 대해 높은 친화도로 결합하고, 이어서, 동일한 세 포(시스-제시) 상에서 또는 상이한 세포(트랜스-제시) 상에서 발현되는 IL-2R β (IL-15R β 및 CD122로도 알려짐) 및 IL-2R γ (CD132 및 γ c로도 알려짐)를 포함하는 복합체와 결합한다. IL-15 신호전달은 JAK/STAT, PI-3K 및 Src 키나제 경로를 활성화시키고, 항-세포자멸사 유전자 및 T 세포 전구체의 증식을 촉진시키는 유전자의 전사 를 초래한다.
- [0254] 다양한 실시형태에서, 조작된 항원 수용체를 발현시키는 면역 효과기 세포를 포함하는 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-15 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터, 및 선택적으로, IL- 15R α 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다. 다양한 실시형태에 서, 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-15 DARIC 면역 수용체 및 조작된 항원 수용체를 암호화하는 하나 이상 의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터, 및 선택적으로, IL-15R α 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또 는 벡터를 도입함으로써 변형된다.
- [0255] 특정 실시형태에서, IL-15 DARIC 면역 수용체는 브리징 인자에 노출 시 IL-15-매개 면역자극 신호를 전달한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-15 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL- 2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-15 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다 량체화 도메인, 막관통 도메인, 및 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0256] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드; 더 바람직하게는, 바이러스

자기-절단성 2A 폴리펩타이드; 및 더 바람직하게는 구제역 바이러스(FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 뇌심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 P2A 또는 T2A 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다.

- [0257] 특정 실시형태에서, IL-15 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인, 및 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하는, 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다. 특정 실시형태에서, IL-15 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다.
- [0258] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 CD4, CD5, CD8 α , CD9, CD 16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, AMN 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0259] 일 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.
- [0260] 특정 실시형태에서, IL-15 DARIC 면역 수용체는 FKBP와 FRB, FKBP와 칼시뉴린, FKBP와 사이클로필린, FKBP와 박테리아 DHFR, 칼시뉴린과 사이클로필린, PYL1과 ABI1, 또는 GIB1과 GAI, 또는 이들의 변이체로부터 선택되는 쌍으로부터 선택된 제1 다량체화 도메인 또는 제2 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0261] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0262] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-2R β 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0263] 일부 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포르리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 또는 조타로리무스이다.
- [0264] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB T2098L이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 AP21967이다.
- [0265] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 라파마이신, 템시로리무스 또는 에베로리무스이다.
- [0266] **5. IL-21 DARIC 면역 수용체**
- [0267] 인터류킨-21(IL-21)은 T 세포 전구체 생존 및 증식을 부분적으로 부분적으로 개선시킴으로써 T 세포 기능 및 활성을 촉진시키는 사이토카인이다. IL-21은 인터류킨 21 수용체(IL-21R, CD360으로도 알려짐) 및 IL-2R γ (CD132 및 γ c로도 알려짐)에 결합한다. IL-21 신호전달은 JAK/STAT, PI-3K 및 Src 키나제 경로를 활성화시키고, 항-세포자멸사 유전자 및 T 세포 전구체의 증식을 촉진시키는 유전자의 전사를 초래한다.
- [0268] 다양한 실시형태에서, 조작된 항원 수용체를 발현시키는 면역 효과기 세포를 포함하는 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-21 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다. 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-21 DARIC 면역 수용체 및 조작된 항원 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다.
- [0269] 특정 실시형태에서, IL-21 DARIC 면역 수용체는 브리징 인자에 대한 노출 시 IL-21-매개 면역자극 신호를 전달한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-21 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-21R 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-21 DARIC 면역 수용체는 제

1 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0270] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드; 더 바람직하게는, 바이러스 자기-절단성 2A 폴리펩타이드; 및 더 바람직하게는 구제역 바이러스(FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 뇌심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 P2A 또는 T2A 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다.

[0271] 특정 실시형태에서, IL-21 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다. 특정 실시형태에서, IL-21 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다.

[0272] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 CD4, CD5, CD8 α , CD9, CD 16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, AMN 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0273] 일 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.

[0274] 특정 실시형태에서, IL-21 DARIC 면역 수용체는 FKBP와 FRB, FKBP와 칼시뉴린, FKBP와 사이클로필린, FKBP와 박테리아 DHFR, 칼시뉴린과 사이클로필린, PYL1과 ABI1, 또는 GIB1과 GAI, 또는 이들의 변이체로부터 선택되는 쌍으로부터 선택된 제1 다량체화 도메인 또는 제2 다량체화 도메인을 포함한다.

[0275] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.

[0276] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-21R 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-2R γ 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.

[0277] 일부 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포르리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 또는 조타로리무스이다.

[0278] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB T2098L이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 AP21967이다.

[0279] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 라파마이신, 템시로리무스 또는 에베로리무스이다.

[0280] **6. IL-1 DARIC 면역 수용체**

[0281] 인터류킨-1(IL-1)은 부분적으로 IFN γ 발현을 증가시키고, T 세포 증식을 증가시키며, 활성화 유도 세포사(AICD)에 대한 보호를 강력하게 함으로써 T 세포 기능 및 활성을 촉진시키는 사이토카인이다. IL-1은 인터류킨 1 수용체 1, (IL-1R1, CD121a로도 알려짐) 및 인터류킨 1 수용체 부속 단백질(IL-1RAP)에 결합한다.

[0282] IL-1R1 및 IL-1RAP를 통한 IL-1 신호전달은 MyD88 어댑터 단백질 및 IRAK4 인산화를 통한 활성화를 초래한다. IRAK4의 인산화 및 IRAK1/2의 후속적 인산화는 궁극적으로 NF- κ B 및 AP-1 전사 인자의 활성화를 야기하여 IFN γ 발현을 증가시키고, IL-12에 대한 민감성을 증가시킨다. IL-1에 의해 유도되는 전사 프로그램은 또한 T 세포 증식을 증가시키고, AICD에 대해 보호한다.

[0283] 다양한 실시형태에서, 조작된 항원 수용체를 발현시키는 면역 효과기 세포를 포함하는 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-1 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형

된다. 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 면역 효과기 세포는 IL-1 DARIC 면역 수용체 및 조작된 항원 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다.

[0284] 특정 실시형태에서, IL-1 DARIC 면역 수용체는 브리징 인자에 대한 노출 시 IL-1-매개 면역자극 신호를 전달한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-1 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 IL-1 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0285] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드; 더 바람직하게는, 바이러스 자기-절단성 2A 폴리펩타이드; 및 더 바람직하게는 구제역 바이러스(FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 뇌심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 P2A 또는 T2A 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다.

[0286] 특정 실시형태에서, IL-1 DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다. 특정 실시형태에서, IL-1 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다.

[0287] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 CD4, CD5, CD8 α, CD9, CD 16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, AMN 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0288] 일 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.

[0289] 특정 실시형태에서, IL-1 DARIC 면역 수용체는 FKBP와 FRB, FKBP와 칼시뉴린, FKBP와 사이클로필린, FKBP와 박테리아 DHFR, 칼시뉴린과 사이클로필린, PYL1과 ABI1, 또는 GIB1과 GAI, 또는 이들의 변이체로부터 선택되는 쌍으로부터 선택된 제1 다량체화 도메인 또는 제2 다량체화 도메인을 포함한다.

[0290] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.

[0291] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-1RAP 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 IL-1R1 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.

[0292] 일부 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포르리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 또는 조타로리무스이다.

[0293] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB T2098L이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 AP21967이다.

[0294] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 라파마이신, 템시로리무스 또는 에베로리무스이다.

[0295] **7. TLR DARIC 면역 수용체**

[0296] 톨 유사 수용체(TLR1 내지 TLR10)은 침윤성 병원균을 검출하며, 내재 면역 및 적응 면역 반응을 활성화시키는 패턴 인식 수용체이다. 다양한 리간드에 의한 TLR의 활성화는 전염증 전사 프로그램의 유도 및 다중 염증 사이토카인의 발현을 야기한다.

- [0297] TLR 신호전달은 MyD88 어댑터 단백질 및 IRAK4 인산화를 통해 활성화를 야기하는 TLR 신호전달 도메인의 동종이량체화를 통해 일어난다. IRAK4의 인산화 및 IRAK1/2의 후속적 인산화는 궁극적으로 NF-카파 B 및 AP-1 전사 인자의 활성화를 야기하여 염증 사이토카인 생성을 증가시키고, 증식을 유도한다. TLR 활성화는 또한 IRF3 및 IRF7 전사 인자의 활성화를 야기한다.
- [0298] 다양한 실시형태에서, 조작된 항원 수용체를 발현시키는 면역 효과기 세포를 포함하는 하나 이상의 면역 효과기 세포는 TLR DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다. 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 면역 효과기 세포는 TLR DARIC 면역 수용체 및 조작된 항원 수용체를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 변형된다.
- [0299] 특정 실시형태에서, TLR DARIC 면역 수용체는 브리징 인자에 대한 노출 시 TLR 매개 면역자극 신호를 전달한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 TLR DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 TLR 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 동일한 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 TLR DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 TLR 세포내 신호전달 도메인; 폴리펩타이드 절단 신호; 및 제2 다량체화 도메인, 막관통 도메인 및 동일한 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0300] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드; 더 바람직하게는, 바이러스 자기-절단성 2A 폴리펩타이드; 및 더 바람직하게는 구제역 바이러스(FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 너심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 P2A 또는 T2A 바이러스 자기-절단성 폴리펩타이드이다.
- [0301] 특정 실시형태에서, TLR DARIC 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 동일한 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다. 특정 실시형태에서, TLR 면역 수용체는 제1 다량체화 도메인, 제1 막관통 도메인 및 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 제1 폴리펩타이드; 및 제2 다량체화 도메인, 제2 막관통 도메인 및 동일한 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 폴리펩타이드의 복합체이다.
- [0302] 바람직한 실시형태에서, TLR 세포내 신호전달 도메인은 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 또는 TLR10으로부터 단리된다.
- [0303] 특정 실시형태에서, 제1 막관통 도메인과 제2 막관통 도메인은 CD4, CD5, CD8 α, CD9, CD 16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD71, CD80, CD86, CD 134, CD137, CD152, CD 154, AMN 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0304] 일 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하다.
- [0305] 특정 실시형태에서, TLR DARIC 면역 수용체는 FKBP와 FRB, FKBP와 칼시뉴린, FKBP와 사이클로필린, FKBP와 박테리아 DHFR, 칼시뉴린과 사이클로필린, PYL1과 ABI1 또는 GIB1과 GAI, 또는 이들의 변이체로부터 선택되는 쌍으로부터 선택된 제1 다량체화 도메인 또는 제2 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0306] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 동일한 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0307] 특정 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 FRB 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함하고; 제2 폴리펩타이드는 FKBP 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, CD4 또는 CD8 α 막관통 도메인 및 동일한 TLR 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 다량체화 도메인을 포함한다.
- [0308] 일부 실시형태에서, 브리징 인자는 AP21967, 시로리무스, 에베로리무스, 노보리무스, 피메크로리무스, 리다포르리무스, 타크로리무스, 템시로리무스, 우미로리무스 또는 조타로리무스이다.
- [0309] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB T2098L이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는

AP21967이다.

[0310] 특정 실시형태에서, FRB 폴리펩타이드는 FRB이고; FKBP 폴리펩타이드는 FKBP12이며; 브리징 인자는 라파마이신, 템시로리무스 또는 에베로리무스이다.

[0311] **D. 조작된 항원 수용체**

[0312] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드는 조작된 항원 수용체, 폴리펩타이드 절단 신호 및 DARIC 면역 수용체를 포함한다. 다른 특정 실시형태에서, DARIC 면역 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터는 조작된 항원 수용체를 포함하는 면역 효과기 세포 내로 도입된다. 임의의 특정 이론에 의해 구속되는 일 없이, 특정 실시형태에서, 당업계에서 공지된 임의의 메커니즘은 TME에 대한 면역 효과기 세포의 내성을 증가시키기 위해 그리고 면역 효과기 세포 반응의 효율, 효능 및 지속 능력을 강력하게 하고 증가시키기 위해 동일한 면역 효과기 세포 또는 세포 집단에서 조작된 항원 수용체 및 DARIC 수용체를 도입하고 공동 발현시키기 위해 사용될 수 있다는 것이 상정된다.

[0313] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 면역 효과기 세포는 조작된 항원 수용체 및 DARIC 면역 수용체를 포함한다. 특정 실시형태에서, 조작된 항원 수용체는 조작된 T 세포 수용체(TCR), 키메라 항원 수용체(CAR), 또는 제타카인이다.

[0314] **1. 조작된 TCR**

[0315] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 면역 효과기 세포는 조작된 TCR 및 DARIC 면역 수용체를 포함한다. 일 실시형태에서, T 세포는 하나 이상의 폴리펩타이드 절단 신호에 의해 분리되는 조작된 TCR 및 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 조작된다. 일 실시형태에서, T 세포는 조작된 TCR을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터 및 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 조작된다. 일 실시형태에서, T 세포는 조작된 TCR을 발현시키도록 조작되고, DARIC 면역 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 추가로 조작된다.

[0316] 천연 유래 T 세포 수용체는 2개의 소단위, 즉, 알파쇄 및 베타쇄 소단위를 포함하는데, 이들 각각은 각각의 T 세포 계통에서의 재조합 사건에 의해 생산되는 독특한 단백질이다. TCR의 라이브러리는 특정 표적 항원에 대한 그들의 선택성에 대해 선별될 수 있다. 이런 방식으로, 표적 항원에 대해 높은 결합활성 및 반응성을 갖는 천연 TCR이 선택, 클로닝되고, 후속적으로 양자 면역요법을 위해 사용되는 T 세포 집단 내로 도입될 수 있다.

[0317] 일 실시형태에서, T 세포는 표적 항원을 발현시키는 종양 세포에 T 세포에 대한 특이성을 부여하는 TCR을 형성하는 능력을 갖는 TCR 소단위를 도입함으로써 변형된다. 특정 실시형태에서, 소단위가 TCR을 형성하는 능력을 보유하고, 형질감염된 T 세포에 표적 세포로 귀소하는 능력을 부여하며, 면역학적으로 적절한 사이토카인 신호 전달에 참여하는 한, 소단위는 천연 유래 소단위에 비해 하나 이상의 치환, 결실, 삽입 또는 변형을 가진다. 조작된 TCR은 바람직하게는 또한 높은 결합활성을 갖는 적절한 종양-관련 펩타이드를 나타내는 표적 세포에 결합하고, 선택적으로 생체내에서 적절한 펩타이드를 제시하는 표적 세포의 효율적인 사멸을 매개한다.

[0318] 조작된 TCR을 암호화하는 핵산은 바람직하게는 T 세포의 (천연 유래) 염색체에서 그들의 천연 상황으로부터 분리되고, 본 명세서에 기재된 바와 같은 적합한 벡터 내로 혼입될 수 있다. 핵산과 그들을 포함하는 벡터는 둘 다 세포, 바람직하게는 특정 실시형태에서 T 세포 내로 전달될 수 있다. 이어서, 변형된 T 세포는 형질도입된 핵산 또는 핵산들에 의해 암호화된 TCR의 하나 이상의 쇄를 발현시킬 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 조작된 TCR은 특정 TCR을 정상적으로 발현시키지 않는 T 세포 내로 도입되기 때문에, 외인성 TCR이다. 조작된 TCR의 필수 양상은 구조적 적합 복합체(MHC) 또는 유사한 면역학적 성분에 의해 제시된 종양 항원에 대해 높은 결합활성을 가진다는 것이다. 조작된 TCR과 대조적으로, CAR은 MHC 독립적 방식으로 표적 항원에 결합하도록 조작된다.

[0319] TCR은 부착된 추가적인 폴리펩타이드가 작용성 T 세포 수용체를 형성하는 알파쇄 또는 베타쇄의 능력 및 MHC의 존재 항원 인식을 방해하지 않는 한, TCR의 알파쇄 또는 베타쇄의 아미노-말단 또는 카복실-말단 부분에 부착된 추가적인 폴리펩타이드에 의해 발현될 수 있다.

[0320] 특정 실시형태에서 상정된 조작된 TCR에 의해 인식되는 항원은 혈액학적 암 및 고형 종양 상의 항원을 포함하는, 암 항원을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예시적인 항원은 알파 엽산 수용체, 알파 엽산 수용체, 5T4, $\alpha v \beta 6$ 인테그린, BCMA, B7-H3, B7-H6, CAIX, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD70, CD79a, CD79b, CD123, CD138, CD171, CEA, CSPG4, EGFR, ErbB2(HER2)를 포함하는 EGFR 패밀리를, EGFRvIII, EGP2, EGP40, EPCAM, EphA2, EpCAM, FAP, 태아 AchR, FR α , GD2, GD3, 글리피칸-3(GPC3), HLA-

CD154, AMN 및 PD-1의 적어도 막관통 영역(들)으로부터 유래될 수 있다(즉, 포함한다).

- [0336] 일 실시형태에서, CAR은 CD8 α로부터 유래된 TM 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 CAR은 TM 도메인과 CAR의 세포내 신호전달 도메인을 연결하는 CD8 α 및 짧은 올리고- 또는 폴리펩타이드 링커, 바람직하게는 길이가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산으로부터 유래된 TM 도메인을 포함한다. 글리신-세린 링커는 특히 적합한 링커를 제공한다.
- [0337] 바람직한 실시형태에서, CAR은 하나 이상의 "공자극 신호전달 도메인" 및 "1차 신호전달 도메인"을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0338] 자극 방식으로 작용하는 1차 신호전달 도메인은 면역수용체 타이로신계 활성화 모티프 또는 ITAM으로서 알려진 신호전달 모티프를 함유할 수 있다.
- [0339] 특정 실시형태에서 상정된 CAR에서 사용하기에 적합한 1차 신호전달 도메인을 함유하는 ITAM의 예시적 예는 FcR γ, FcR β, CD3 γ, CD3 δ, CD3 ε, CD3 ζ, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d로부터 유래되는 것을 포함한다. 특정 바람직한 실시형태에서, CAR은 CD3 ζ 1차 신호전달 도메인 및 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 1차 신호전달 및 공자극 신호전달 도메인은 막관통 도메인의 카복실 말단과 동시에 임의의 순서로 연결될 수 있다.
- [0340] 특정 실시형태에서, CAR은 CAR 수용체를 발현시키는 T 세포의 효능 및 확장을 향상시키기 위해 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0341] 특정 실시형태에서 상정된 CAR에서 사용하기에 적합한 이러한 공자극 분자의 예시적 예는 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, CARD11, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CD54(ICAM), CD83, CD134(OX40), CD137(4-1BB), CD278(ICOS), DAP10, LAT, NKD2C, SLP76, TRIM 및 ZAP70을 포함한다. 일 실시형태에서, CAR은 CD28, CD137, 및 CD134, 및 CD3 ζ 1차 신호전달 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0342] 다양한 실시형태에서, CAR은 BCMA, CD19, CSPG4, PSCA, ROR1 및 TAG72로 이루어진 군으로부터 선택된 항원에 결합되는 세포의 도메인; CD4, CD8 α, CD154 및 PD-1로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩타이드로부터 단리된 막관통 도메인; CD28, CD134 및 CD137로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩타이드로부터 단리된 하나 이상의 세포내 공자극 신호전달 도메인; 및 FcR γ, FcR β, CD3 γ, CD3 δ, CD3 ε, CD3 ζ, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩타이드로부터 단리된 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0343] **3. 제타카인**
- [0344] 다양한 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 종양 세포를 향해 세포독성을 다시 보내는 키메라 사이토카인 수용체를 포함한다. 제타카인은 세포 표면, 막관통 영역 및 세포내 신호전달 도메인에 세포의 도메인을 테더링할 수 있는 지지 영역에 연결된 가용성 수용체 리간드를 포함하는 세포의 도메인을 포함하는 키메라 막관통 면역수용체이다. T 림프구의 표면 상에서 발현된 제타카인은 T 세포 활성을 가용성 수용체 리간드에 특이적인 수용체를 발현시키는 해당 세포로 보낸다. 제타카인 키메라 면역수용체는, 특히 인간 악성종양에 의해 이용되는 자가분비/근거리분비 사이토카인 시스템을 통한 다양한 암 치료에 대한 적용에 의해 T 세포의 항원 특이성을 다시 보낸다.
- [0345] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 면역 효과기 세포는 제타카인 수용체 및 DARIC 면역 수용체의 하나 이상의쇄를 포함한다. 일 실시형태에서, T 세포는 하나 이상의 폴리펩타이드 절단 신호에 의해 분리된 제타카인 수용체 및 DARIC 면역 수용체의 하나 이상의쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 조작된다. 일 실시형태에서, T 세포는 제타카인 수용체의 하나 이상의쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터 및 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 조작된다. 일 실시형태에서, T 세포는 제타카인 수용체의 하나 이상의쇄를 발현시키도록 조작되고, DARIC 면역 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 도입함으로써 추가로 조작된다.
- [0346] 특정 실시형태에서, 제타카인은 면역억제 사이토카인 또는 이의 사이토카인 수용체 결합 변이체, 링커, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.
- [0347] 특정 실시형태에서, 사이토카인 또는 이의 사이토카인 수용체 결합 변이체는 인터류킨-4(IL-4), 인터류킨-6(IL-6), 인터류킨-8(IL-8), 인터류킨-10(IL-10) 및 인터류킨-13(IL-13)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0348] 특정 실시형태에서, 링커는 CH2CH3 도메인, 힌지 도메인 등을 포함한다. 일 실시형태에서, 링커는 IgG1, IgG4 또는 IgD의 CH2 및 CH3 도메인을 포함한다. 일 실시형태에서, 링커는 CD8 α 또는 CD4 힌지 도메인을 포함한다.
- [0349] 특정 실시형태에서, 막관통 도메인은 T-세포 수용체, CD3 δ, CD3 ε, CD3 γ, CD3 ζ, CD4, CD5, CD8 α, CD9, CD16, CD22, CD27, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD152, CD154, AMN 및 PD-1의 알파 또는 베타 쇄로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0350] 특정 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 신호전달 도메인 및/또는 공자극 도메인을 함유하는 ITAM으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0351] 특정 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 FcR γ, FcR β, CD3 γ, CD3 δ, CD3 ε, CD3 ζ, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0352] 특정 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, CARD11, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CD54(ICAM), CD83, CD134(OX40), CD137(4-1BB), CD278(ICOS), DAP10, LAT, NKD2C, SLP76, TRIM 및 ZAP70로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0353] 일 실시형태에서, 키메라 사이토카인 수용체는 CD28, CD137, 및 CD134, 및 CD3 ζ 1차 신호전달 도메인으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 공자극 신호전달 도메인을 포함한다.

[0354] **E. 폴리펩타이드**

- [0355] DARIC 면역 수용체, 조작된 TCR, CAR, 제타카인, 앞서 언급한 폴리펩타이드 및 이의 단편을 포함하는 융합 단백질 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 다양한 폴리펩타이드가 본 명세서에 상정된다. 바람직한 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열번호 1 내지 6 중 임의의 하나에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은, 달리 대조적으로 구체화되지 않는 한, 상호 호환적으로 그리고 통상적인 의미에 따라, 즉, 아미노산 서열로서 사용된다. 일 실시형태에서, "폴리펩타이드"는 융합 폴리펩타이드 및 다른 변이체를 포함한다. 폴리펩타이드는 임의의 다양한 잘 공지된 제조법 및/또는 합성 기법을 이용하여 제조될 수 있다. 폴리펩타이드는 특정 길이로 제한되지 않으며, 예를 들어, 그들은 전장 단백질 서열, 전장 단백질의 단편 또는 융합 단백질을 포함할 수 있고, 폴리펩타이드의 번역후 변형, 예를 들어, 글리코실화, 아세틸화, 포스포릴화 등뿐만 아니라 당연계에 공지된 다른 변형, 즉, 천연 유래와 비천연 유래 둘 다를 포함할 수 있다. 특정 바람직한 실시형태에서 융합 폴리펩타이드, 폴리펩타이드, 이들의 단편 및 다른 변이체가 하나 이상의 인간 폴리펩타이드로부터 제조되거나, 얻어지거나, 단리된다.
- [0356] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 "단리된 펩타이드" 또는 "단리된 폴리펩타이드" 등은 세포 환경으로부터 그리고 세포의 다른 성분과의 결합으로부터의 펩타이드 또는 폴리펩타이드 분자의 시험관내 단리 및/또는 정제를 지칭하며, 즉, 이는 생체내 물질과 상당히 관련되지 않는다. 특정 실시형태에서, 단리된 폴리펩타이드는 합성 폴리펩타이드, 반합성 폴리펩타이드, 또는 제조법 공급원으로부터 얻어지거나 유래된 폴리펩타이드이다.
- [0357] 폴리펩타이드는 "폴리펩타이드 변이체"를 포함한다. 폴리펩타이드 변이체는 하나 이상의 치환, 결실, 첨가 및/또는 삽입에서 천연 유래 폴리펩타이드와 상이할 수 있다. 이러한 변이체는 천연 유래일 수 있거나 또는, 예를 들어, 상기 폴리펩타이드 서열 중 하나 이상을 변형시킴으로써 합성에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 내로 하나 이상의 치환, 결실, 첨가 및/또는 삽입을 도입함으로써 폴리펩타이드의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드는 본 명세서에 상정된 임의의 기준 서열에 대해 적어도 약 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 86%, 97%, 98% 또는 99%의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함하며, 전형적으로 여기서 변이체는 기준 서열의 적어도 하나의 생물학적 활성을 유지한다. 특정 실시형태에서, 생물학적 활성은 결합 친화도이다. 특정 실시형태에서, 생물학적 활성은 효소 활성이다.
- [0358] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 복합체는 (i) 제1 다량체화 도메인을 갖는 제1 폴리펩타이드, 예를 들어, 제1 융합 폴리펩타이드, 및 (ii) 제1 다량체화 도메인과 동일하지 않은 제2 다량체화 도메인을 갖는 제2 폴리펩타이드, 예를 들어, 제2 융합 폴리펩타이드를 포함하되, 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인은 브리징 인자의 존재 하에 폴리펩타이드 복합체의 형성에 실질적으로 기여하거나 이를 효율적으로 촉진시킨다. 제1 다량체화 도메인, 제2 다량체화 도메인, 또는 브리징 인자의 부재 하에 제1 융합 폴리펩타이드와 제2 융합 폴리펩타이드 사이에 통계학적으로 유의한 결합의 감소가 있다면, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인 사이의 상

호작용(들)은 제1 융합 폴리펩타이드와 제2 융합 폴리펩타이드의 다량체화에 실질적으로 기여하거나 효율적으로 촉진시킨다. 특정 실시형태에서, 제1 융합 폴리펩타이드 및 제2 융합 폴리펩타이드가 공동 발현될 때, 제1 단일쇄 폴리펩타이드 및 제2 단일쇄 폴리펩타이드의 적어도 약 60%, 예를 들어, 적어도 약 60% 내지 약 70%, 적어도 약 70% 내지 약 80%, 적어도 약 80% 내지 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%, 및 적어도 약 90% 내지 약 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%는 브리징 인자의 존재 하에 서로 다량체를 형성한다.

[0359] 폴리펩타이드 변이체는 생물학적으로 활성인 "폴리펩타이드 단편"을 포함한다. 생물학적으로 활성인 폴리펩타이드 단편의 예시적 예는 결합 도메인, 신호전달 도메인 등을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "생물학적으로 활성인 단편" 또는 "최소 생물학적으로 활성인 단편"은 천연 유래 폴리펩타이드 활성의 적어도 100%, 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60%, 적어도 50%, 적어도 40%, 적어도 30%, 적어도 20%, 적어도 10% 또는 적어도 5%를 보유하는 폴리펩타이드 단편을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 단편은 적어도 5 내지 약 1700개의 아미노산 길이의 아미노산 쇄를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 단편은 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700개 이상의 아미노산 길이라는 것이 인식될 것이다.

[0360] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제시된 폴리펩타이드는 "X"로서 나타내는 하나 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. "X"가 아미노산 서열 번호에 존재한다면, 임의의 하나 이상의 아미노산을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 융합 단백질을 나타내는 서열번호는 임의의 scFv를 누적적으로 나타내는 연속적 X 잔기의 서열을 포함한다.

[0361] 상기 언급한 바와 같이, 폴리펩타이드는 아미노산 치환, 결실, 절단 및 삽입을 포함하는 다양한 방법으로 변경될 수 있다. 이러한 조작을 위한 방법은 일반적으로 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 기존 폴리펩타이드의 아미노산 서열 변이체는 DNA에서의 돌연변이에 의해 제조될 수 있다. 돌연변이유발 및 뉴클레오타이드 서열 변경을 위한 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Kunkel (1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 488-492), Kunkel *et al.*, (1987, *Methods in Enzymol*, 154: 367-382)], 미국 특허 제4,873,192호, 문헌[Watson, J. D. *et al.*, (*Molecular Biology of the Gene*, Fourth Edition, Benjamin/Cummings, Menlo Park, Calif., 1987)] 및 그에 인용된 참고문헌을 참조. 관심 대상의 단백질의 생물학적 활성에 영향을 미치지 않는 적절한 아미노산 치환에 대한 가이드는 문헌[Dayhoff *et al.*, (1978) *Atlas of Protein Sequence and Structure (Natl. Biomed. Res. Found.*, Washington, D.C.)]의 모델에서 찾을 수 있다.

[0362] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 변이체는 하나 이상의 보존적 치환을 포함한다. "보존적 치환"은 펩타이드 화학 분야의 당업자가 폴리펩타이드의 2차 구조 및 소수성 특성이 실질적으로 변하지 않는 것으로 예상하도록 아미노산이 유사한 특성을 갖는 다른 아미노산으로 치환되는 것이다. 변형은 특정 실시형태에서 상정된 폴리뉴클레오타이드 및 폴리펩타이드의 구조에서 만들어질 수 있으며, 바람직한 특징을 갖는 변이체 또는 유도체 폴리펩타이드를 암호화하는 작용성 분자를 여전히 얻는다. 동등한, 또는 심지어 개선된 변이체 폴리펩타이드를 생성하기 위해 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 변경시키도록 요망될 때, 당업자는, 예를 들어, 표 1에 따라, 예를 들어 암호화 DNA 서열의 코돈 중 하나 이상을 변화시킬 수 있다.

표 1

아미노산 코돈

아미노산	1글자 암호	3글자 암호	코돈					
알라닌	A	Ala	GCA	GCC	GCG	GCU		
시스테인	C	Cys	UGC	UGU				
아스파르트산	D	Asp	GAC	GAU				
글루탐산	E	Glu	GAA	GAG				
페닐알라닌	F	Phe	UUC	UUU				
글리신	G	Gly	GGA	GGC	GGG	GGU		
히스티딘	H	His	CAC	CAU				
아이소류신	I	Iso	AUA	AUC	AUU			
라이신	K	Lys	AAA	AAG				
류신	L	Leu	UUA	UUG	CUA	CUC	CUG	CUU
메티오닌	M	Met	AUG					
아스파라긴	N	Asn	AAC	AAU				
프롤린	P	Pro	CCA	CCC	CCG	CCU		
글루타민	Q	Gln	CAA	CAG				
알기닌	R	Arg	AGA	AGG	CGA	CGC	CGG	CGU
세린	S	Ser	AGC	AGU	UCA	UCC	UCG	UCU
트레오닌	T	Thr	ACA	ACC	ACG	ACU		
발린	V	Val	GUA	GUC	GUG	GUU		
트립토판	W	Trp	UGG					
타이로신	Y	Tyr	UAC	UAU				

[0363]

[0364]

생물학적 활성을 없애는 일 없이 아미노산 잔기가 치환, 삽입 또는 결실되는 것을 결정하는 가이드는 당업계에서 잘 공지된 컴퓨터 프로그램, 예컨대 DNASTAR, DNA Strider, Geneious, Mac Vector, 또는 Vector NTI 소프트웨어를 이용하여 찾을 수 있다. 바람직하게는, 본 명세서에 개시된 단백질 변이체에서 아미노산 변화는 보존적 아미노산 변화, 즉, 유사하게 하전된 또는 비하전된 아미노산의 치환이다. 보존적 아미노산 변화는 그들의 측쇄와 관련된 아미노산 패밀리 중 하나의 치환을 수반한다. 천연 유래 아미노산은 일반적으로 4가지 패밀리로 분류된다: 산성(아스파르트레이트, 글루타메이트), 염기성(라이신, 알기닌, 히스티딘), 비극성(알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판) 및 비하전 극성(글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 타이로신) 아미노산. 페닐알라닌, 트립토판 및 타이로신은 때때로 공통적으로 방향족 아미노산으로서 분류된다. 펩타이드 또는 단백질에서, 아미노산의 적합한 보존적 치환은 당업자에게 공지되어 있으며, 일반적으로 얻어진 분자의 생물학적 활성을 변경시키는 일 없이 이루어질 수 있다. 당업자라면 일반적으로, 폴리펩타이드의 비필수 영역 내 단일 아미노산 치환이 생물학적 활성을 실질적으로 변경시키지 않는다는 것을 인식한다(예를 들어, 문헌[Watson et al. *Molecular Biology of the Gene*, 4th Edition, 1987, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p.224] 참조).

[0365]

일 실시형태에서, 2 이상의 폴리펩타이드의 발현이 요망되는 경우, 그들을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 본 명세서의 다른 곳에서와 같이 IRES에 의해 분리될 수 있다.

[0366]

특정 실시형태에서 상정된 폴리펩타이드는 융합 폴리펩타이드를 포함한다. 특정 실시형태에서, 융합 폴리펩타이드 및 융합 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 융합 폴리펩타이드 및 융합 단백질은 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 폴리펩타이드 세그먼트를 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 바람직한 실시형태에서, 융합 폴리펩타이드는 DARIC 면역 수용체이다. 다른 바람직한 실시형태에서, 융합 폴리펩타이드는 하나 이상의 DARIC 면역 수용체를 포함한다. 특정 바람직한 실시형태에서 융합 폴리펩타이드는 하나 이상의 인

간 폴리펩타이드의 하나 이상의 세그먼트, 단편 또는 도메인을 포함한다.

- [0367] 다른 실시형태에서, 2 이상의 폴리펩타이드는 본 명세서의 다른 곳에 개시된 하나 이상의 자기-절단성 폴리펩타이드 서열을 포함하는 융합 단백질로서 발현될 수 있다.
- [0368] 융합 폴리펩타이드는 신호 펩타이드, 세포 침투성 펩타이드 도메인(CPP), DNA 결합 도메인, 신호전달 도메인 등, 에피토프 태그(예를 들어, 말토스 결합 단백질("MBP"), 글루타티온 S 트랜스퍼라제(GST), HIS6, MYC, FLAG, V5, VSV-G 및 HA), 폴리펩타이드 링커 및 폴리펩타이드 절단 신호를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 폴리펩타이드 도메인 또는 세그먼트를 포함할 수 있다. 융합 폴리펩타이드는, 그들이 또한 C-말단에서 C-말단으로, N-말단에서 N-말단으로, 또는 N-말단에서 C-말단으로 연결될 수 있지만, 전형적으로 C-말단에서 N-말단으로 연결된다. 특정 실시형태에서, 융합 단백질의 폴리펩타이드는 임의의 순서일 수 있다. 융합 폴리펩타이드 또는 융합 단백질은 또한, 융합 폴리펩타이드의 목적으로 하는 활성이 보존되는 한, 보존적으로 변형된 변이체, 다형성 변이체, 대립유전자, 돌연변이체, 하위서열 및 중간 상동체를 포함할 수 있다. 융합 폴리펩타이드는 화학적 합성 방법에 의해 또는 두 모이어티 사이의 화학적 결합에 의해 생산될 수 있거나 또는 일반적으로 다른 표준 기법을 이용하여 제조될 수 있다. 융합 폴리펩타이드를 포함하는 절찰된 DNA 서열은 본 명세서의 다른 곳에 개시된 바와 같은 적합한 전사 또는 번역 제어 요소에 작동 가능하게 연결된다.
- [0369] 융합 폴리펩타이드는 하나 이상의 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 내의 도메인을 연결하기 위해 사용될 수 있는 링커를 선택적으로 포함할 수 있다. 펩타이드 링커 서열은 폴리펩타이드 도메인이 그들의 목적으로 하는 기능을 발휘하도록 각각의 폴리펩타이드가 그의 적절한 2차 및 3차 구조로 폴딩되는 것을 보장하는 데 충분한 거리만큼 임의의 2개 이상의 폴리펩타이드 성분을 분리시키는 데 사용될 수 있다. 이러한 펩타이드 링커 서열은 당업계에서 표준 기법을 이용하여 융합 폴리펩타이드 내로 혼입된다. 적합한 펩타이드 링커 서열은 다음의 인자에 기반하여 선택될 수 있다: (1) 가요성의 연장된 입체배치를 채택하는 그들의 능력; (2) 제1 및 제2 폴리펩타이드 상의 작용성 에피토프와 상호작용할 수 있는 2차 구조를 채택하는 그들의 불능; 및 (3) 폴리펩타이드 작용성 에피토프와 반응하는 소수성 또는 하전된 잔기의 결여. 바람직한 펩타이드 링커 서열은 Gly, Asn 및 Ser 잔기를 함유한다. 다른 근처의 중성 아미노산, 예컨대 Thr 및 Ala은 또한 링커 서열에서 사용될 수 있다. 링커로서 유용하게 사용될 수 있는 아미노산 서열은 문헌[Maratea *et al.*, *Gene* 40:39-46, 1985; Murphy *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:8258-8262, 1986]; 미국 특허 제4,935,233호 및 미국 특허 제4,751,180호에 개시된 것을 포함한다. 특정 융합 폴리펩타이드 세그먼트가 작용성 도메인을 분리시키고 입체 방해를 방지하기 위해 사용될 수 있는 비필수 N-말단 아미노산 영역을 함유할 때 링커 서열은 필요하지 않다. 바람직한 링커는 재조합 융합 단백질의 부분으로서 합성되는 전형적으로 가요성의 아미노산 하위서열이다. 링커 폴리펩타이드는 길이가 1 내지 200개의 아미노산, 길이가 1 내지 100개의 아미노산, 또는 길이가 1 내지 50개의 아미노산(그 사이의 모든 정수를 포함)일 수 있다.
- [0370] 예시적인 폴리펩타이드 절단 신호는 폴리펩타이드 절단 인식 부위, 예컨대 프로테아제 절단 부위, 뉴클레아제 절단 부위(예를 들어, 희귀 제한 효소 인식 부위, 자기-절단성 리보자임 인식 부위) 및 자기-절단성 바이러스 올리고펩타이드를 포함한다(문헌[deFelipe and Ryan, 2004. *Traffic*, 5(8); 616-26] 참조).
- [0371] 적합한 프로테아제 절단 부위 및 자기-절단성 펩타이드는 당업자에게 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Ryan *et al.*, 1997. *J. Gener. Virol.* 78, 699-722; Scymczak *et al.* (2004) *Nature Biotech.* 5, 589-594] 참조). 예시적인 프로테아제 절단 부위는 포티바이러스 NIa 프로테아제(예를 들어, 담배 식각 바이러스), 포티바이러스 HC 프로테아제, 포티바이러스 P1(P35) 프로테아제, 비오바이러스 NIa 프로테아제, 비오바이러스 RNA-2-암호화된 프로테아제, 아프타바이러스 L 프로테아제, 엔테로바이러스 2A 프로테아제, 리노바이러스 2A 프로테아제, 피코르나 3C 프로테아제, 코모바이러스 24K 프로테아제, 네포바이러스 24K 프로테아제, RTSV(벼 통그로 구형 바이러스) 3C-유사 프로테아제, PVVF(파스닙 황색 얼룩 바이러스(parsnip yellow fleck virus)) 3C-유사 프로테아제, 헤파린, 트롬빈, 인자 Xa 및 엔테로키나제의 절단 부위를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 그의 고절단 엄격성에 기인하여, TEV(담배 식각 바이러스) 프로테아제 절단 부위는 일 실시형태, 예를 들어, EXXXYQ(G/S)(서열번호 18), 예를 들어, ENLYFQG(서열번호 19) 및 ENLYFQS(서열번호 20)에서 바람직하되, X는 임의의 아미노산을 나타낸다(TEV에 의한 절단은 Q와 G 또는 Q와 S 사이에서 생김).
- [0372] 특정 실시형태에서, 폴리펩타이드 절단 신호는 바이러스 자기-절단성 펩타이드 또는 리보솜 스키피ng 서열이다.
- [0373] 리보솜 스키피ng 서열의 예시적인 예는 2A 또는 2A-유사 부위, 서열 또는 도메인을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다(Donnelly *et al.*, 2001. *J. Gen. Virol.* 82:1027-1041). 특정 실시형태에서, 바이러스 2A 펩타이드는 아프타바이러스 2A 펩타이드, 포티바이러스 2A 펩타이드, 또는 카디오바이러스 2A 펩타이드이다.

[0374] 일 실시형태에서, 바이러스 2A 펩타이드는 구제역 바이러스(FMDV)(F2A) 펩타이드, 마 비염 A 바이러스(ERAV)(E2A) 펩타이드, 토세아 아시그나 바이러스(TaV)(T2A) 펩타이드, 돼지 테스코바이러스-1(PTV-1)(P2A) 펩타이드, 테일로바이러스 2A 펩타이드, 및 뇌심근염 바이러스 2A 펩타이드로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0375] 2A 부위의 예시적인 예를 표 2에 제공한다.

표 2

서열번호 21	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
서열번호 22	ATNFSLLKQAGDVEENPGP
서열번호 23	LLKQAGDVEENPGP
서열번호 24	GSGEGRGSLTTCGDVEENPGP
서열번호 25	EGRGSLTTCGDVEENPGP
서열번호 26	LLTCGDVEENPGP
서열번호 27	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP
서열번호 28	QCTNYALLKLAGDVESNPGP
서열번호 29	LLKLAGDVESNPGP
서열번호 30	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 31	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 32	LLKLAGDVESNPGP
서열번호 33	LLNFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 34	TLNFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 35	LLKLAGDVESNPGP
서열번호 36	NFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 37	QLLNFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 38	APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 39	VTELLYRMKRAETYCPRLLAHPTEARHKQKIVAPVKQT
서열번호 40	LNFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 41	LLAIHPTEARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
서열번호 42	EARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

[0376]

[0377] 바람직한 실시형태에서, 폴리펩타이드 또는 융합 폴리펩타이드는 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 포함한다.

[0378] **F. 폴리뉴클레오타이드**

[0379] 특정 실시형태에서, DARIC 면역 수용체, 조작된 TCR, CAR, 제타카인, 앞서 언급한 폴리펩타이드 및 이의 단편을 포함하는 융합 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 데옥시리보핵산(DNA), 리보핵산(RNA) 및 DNA/RNA 혼성체를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드는 단일 가닥 또는 이중 가닥이고 재조합, 합성이거나, 또는 단리될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 전-전령 RNA(전-mRNA), 전령 RNA(mRNA), RNA, 짧은 간섭 RNA(siRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 마이크로RNA(miRNA), 리보자임, 게놈 RNA(gRNA), 플러스 가닥 RNA(RNA(+)), 마이너스 가닥 RNA(RNA(-)), tracrRNA, crRNA, 단일 가이드 RNA(sgRNA), 합성 RNA, 합성 mRNA, 게놈 DNA(gDNA), PCR 증폭된 DNA, 상보성 DNA(cDNA), 합성 DNA 또는 재조합 DNA를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 폴리뉴클레오타이드는 리보뉴클레오타이드 또는 데옥시뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유형의 변형된 형태의 길이가 적어도 5, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 100, 적어도 200, 적어도 300, 적어도 400, 적어도 500,

적어도 1000, 적어도 5000, 적어도 10000, 또는 적어도 15000개 이상뿐만 아니라 모든 중간 길이인 뉴클레오타이드의 중합체 형태를 지칭한다. 이와 관련하여 "중간 길이"는 인용된 값 사이의 임의의 길이, 예컨대 6, 7, 8, 9 등, 101, 102, 103 등; 151, 152, 153 등; 201, 202, 203 등을 의미한다. 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 또는 변이체는 기준 서열에 대해 적어도 또는 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 가진다.

[0380] 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 코돈-최적화될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "코돈-최적화된"은 폴리펩타이드의 발현, 안정성 및/또는 활성을 증가시키기 위해 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 내 코돈을 치환하는 것을 지칭한다. 코돈 최적화에 영향을 미치는 인자는 (i) 둘 이상의 유기체 사이의 코돈 편향의 변형 또는 유전자 또는 합성으로 작제된 편향 표, (ii) 유기체, 유전자 또는 유전자 세트 내에서 코돈 편향 정도의 변형, (iii) 맥락을 포함하는 코돈의 체계적 변형, (iv) 그들의 탈암호 tRNA에 따른 코돈의 변형, (v) 전반적으로 또는 삼중 중 하나의 위치에서 GC%에 따른 코돈의 변형, (vi) 기준 서열, 예를 들어 천연 유래 서열과의 유사성 정도의 변형, (vii) 코돈 빈도 컷오프에서의 변형, (viii) DNA 서열로부터 전사된 mRNA의 구조적 특성, (ix) 코돈 치환 세트의 설계에 기반한 DNA 서열의 기능에 관한 사전 지식, (x) 각각의 아미노산에 대한 코돈 세트의 체계적 변형, 및/또는 (xi) 비논리적 번역 개시 부위의 단리된 제거를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0381] 본 명세서에서 사용되는 용어 "뉴클레오타이드"는 포스포릴화된 당과의 N-글리코사이드 결합에서의 복소환식 질소 염기를 지칭한다. 뉴클레오타이드는 천연 염기 및 매우 다양한 기술-인식된 변형 염기를 포함하는 것으로 이해된다. 이러한 염기는 일반적으로 뉴클레오타이드 당 모이어티의 1' 위치에 위치된다. 뉴클레오타이드는 일반적으로 염기, 당 및 인산염기를 포함한다. 리보핵산(RNA)에서, 당은 리보스이며, 데옥시리보핵산(DNA)에서, 당은 데옥시리보스, 즉, 리보스에 존재하는 하이드록실기가 없는 당이다. 예시적인 천연 질소 염기는 퓨린, 아데노신(A) 및 구아닌(G), 및 피리미딘, 사이티딘(C) 및 티미딘(T)(또는 RNA와 관련하여, 유라실(U))을 포함한다. 데옥시리보스의 C-1 원자는 피리미딘의 N-1 또는 퓨린의 N-9에 결합된다. 뉴클레오타이드는 보통 일, 이- 또는 삼인산염이다. 뉴클레오타이드는 당, 인산염 및/또는 염기 모이어티에서 비변형 또는 변형될 수 있다(또한 뉴클레오타이드 유사체, 뉴클레오타이드 유도체, 변형된 뉴클레오타이드, 비천연 뉴클레오타이드 및 비표준 뉴클레오타이드와 상호 호환적으로 지칭됨; 예를 들어, WO 92/07065 및 WO 93/15187). 변형된 핵산 염기의 예는 문헌[Limbach *et al.*, (1994, *Nucleic Acids Res.* 22, 2183-2196)]에 의해 요약된다.

[0382] 뉴클레오타이드는 또한 당의 C-5에 부착된 하이드록실기 상에서 생기는 에스터화에 의한 뉴클레오사이드의 인산염 에스터로서 간주될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "뉴클레오사이드"는 당과의 N-글리코사이드 결합에서의 복소환식 질소 염기를 지칭한다. 뉴클레오사이드는 천연 염기를 포함하고 잘 공지된 변형된 염기를 포함하는 것으로 당업계에서 인식된다. 이러한 염기는 일반적으로 뉴클레오사이드 당 모이어티의 1' 위치에 위치된다. 뉴클레오사이드는 일반적으로 염기 및 당기를 포함한다. 뉴클레오사이드는 비변형이거나 또는 당 및/또는 염기 모이어티에서 변형될 수 있다(또한 뉴클레오사이드 유사체, 뉴클레오사이드 유도체, 변형된 뉴클레오사이드, 비천연 뉴클레오사이드 또는 비표준 뉴클레오사이드로서 상호 호환적으로 지칭됨). 또한 상기 언급한 바와 같이, 변형된 핵산 염기의 예는 문헌[Limbach *et al.*, (1994, *Nucleic Acids Res.* 22, 2183-2196)]에 의해 요약된다.

[0383] 폴리뉴클레오타이드의 예시적 예는 서열번호 1 내지 6을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0384] 다양한 예시적 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 폴리뉴클레오타이드는 DARIC 번역 수용체, 조작된 항원 수용체, 융합 폴리펩타이드 및 발현 벡터, 바이러스 벡터, 및 본 명세서에 상정된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 전달 플라스미드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0385] 본 명세서에서 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드 변이체" 및 "변이체" 등은 기준 폴리뉴클레오타이드 서열과 실질적인 서열 동일성을 나타내는 폴리뉴클레오타이드 또는 본 명세서에서 이후에 나타내는 엄격한 조건 하에 기준 서열과 혼성화되는 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 이들 용어는 또한 적어도 하나의 뉴클레오타이드의 첨가, 결실, 치환 또는 변형에 의해 기준 폴리뉴클레오타이드와 구별되는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 따라서, 용어 "폴리뉴클레오타이드 변이체" 및 "변이체"는 하나 이상의 뉴클레오타이드가 첨가되거나 또는 결실되거나, 또는 변형되거나 또는 상이한 뉴클레오타이드로 대체된 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 이와 관련하여, 돌연변이, 첨가, 결실 및 치환을 포함하는 특정 변경은 기준 폴리뉴클레오타이드에 대해 이루어질 수

있고, 이에 의해 변경된 폴리뉴클레오타이드는 기준 폴리뉴클레오타이드의 생물학적 기능 또는 활성을 보유한다는 것이 잘 이해된다.

[0386] 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 엄격한 조건 하에 표적 핵산 서열에 혼성화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. "엄격한 조건" 하에 혼성화하는 것은 서로에 대해 적어도 60% 동일한 뉴클레오타이드 서열이 혼성화된 채로 남아있는 혼성화 프로토콜을 기재한다. 일반적으로, 엄격한 조건은 정해진 이온 강도 및 pH에서 특정 서열에 대해 열 용점(T_m)보다 약 5°C 더 낮아지도록 선택된다. T_m은 (정해진 이온 강도, pH 및 핵산 농도 하에) 표적 서열에 대해 상보성인 프로브의 50%가 평형 상태에서 표적 서열에 혼성화하는 온도이다. 표적 서열은 일반적으로 과량으로 존재하기 때문에, T_m에서, 프로브의 50%는 평형상태에서 점유된다.

[0387] 설명 "서열 동일성" 또는, 예를 들어, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 "에 대해 50% 동일한 서열"을 포함하는 것은 서열이 비교창에 걸쳐 뉴클레오타이드 대 뉴클레오타이드 염기 기준 또는 아미노산 대 아미노산 기준과 동일한 정도를 지칭한다. 따라서, "서열 동일성의 백분율"은 비교창에 걸쳐 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교하는 단계, 매칭된 위치의 수를 수득하기 위해 동일한 핵산 염기(예를 들어, A, T, C, G, I) 또는 동일한 아미노산 잔기(예를 들어, Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gln, Cys 및 Met)가 서열 둘 다에서 생기는 위치 수를 결정하는 단계, 매칭된 위치의 수를 비교창에서의 위치의 총수(즉, 창 크기)로 나누는 단계, 및 결과에 100을 곱하여서 서열 동일성의 백분율을 수득하는 단계에 의해 계산될 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 기준 서열에 대해 적어도 약 50%, 55%, 60%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 86%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 및 폴리펩타이드가 포함되며, 전형적으로 폴리펩타이드 변이체는 기준 폴리펩타이드의 적어도 하나의 생물학적 활성을 유지한다.

[0388] 2 이상의 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 사이의 서열 관계를 기재하기 위해 사용되는 용어는 "기준 서열", "비교창", "서열 동일성", "서열 동일성의 백분율" 및 "실질적인 동일성"을 포함한다. "기준 서열"은 길이가 적어도 12개이지만, 빈번하게는 15 내지 18개 및 종종 적어도 25개의 단량체 단위(뉴클레오타이드 및 아미노산 잔기를 포함)이다. 두 폴리뉴클레오타이드는 (1) 두 폴리뉴클레오타이드 사이의 유사한 서열(즉, 완전한 폴리뉴클레오타이드 서열의 일부만), 및 (2) 두 폴리뉴클레오타이드 간에 다른 서열을 각각 포함할 수 있기 때문에, 2(이상의) 폴리뉴클레오타이드 사이의 서열 비교는 전형적으로 서열 유사성의 국소 영역을 확인하고 비교하기 위해 "비교창"에 걸쳐 두 폴리뉴클레오타이드의 서열을 비교함으로써 수행된다. "비교창"은 적어도 6개의 인접한 위치, 보통 약 50 내지 약 100, 더 보통으로는 약 100 내지 약 150개의 개념적 세그먼트를 지칭하며, 이때 서열은 두 서열이 최적으로 정렬된 후에 동일한 수의 인접한 위치의 기준 서열과 비교된다. 비교창은 두 서열의 최적의 정렬을 위해 기준 서열(첨가 또는 결실을 포함하지 않음)에 비해 약 20% 이하의 첨가 또는 결실(즉, 갭)을 포함할 수 있다. 비교창을 정렬하기 위한 서열의 최적의 정렬은 알고리즘의 컴퓨터화된 실행(위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지 릴리즈 7.0에서 GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA, 미국 위스콘신주 메디슨 사이언스 드라이브 575에 소재한 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group))에 의해 또는 검사 및 선택된 임의의 다양한 방법에 의해 생성된 최적의 정렬(즉, 비교창에 걸쳐 가장 큰 백분율의 상동성을 초래)에 의해 수행될 수 있다. 또한, 예를 들어 문헌[Altschul *et al.*, 1997, *Nucl. Acids Res.* 25:3389]에 의해 개시되는 바와 같이 프로그램의 BLAST 패밀리가 언급될 수 있다. 서열 분석의 상세한 논의는 문헌[Unit 19.3 of Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc., 1994-1998, Chapter 15]에서 찾을 수 있다.

[0389] 본 명세서에서 사용되는 "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 천연-유래 상태, 예를 들어, 단편에 정상적으로 인접한 서열로부터 제거된 DNA 단편에서 그것에 축적하는 서열로부터 정제된 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. "단리된 폴리뉴클레오타이드"는 또한 상보성 DNA(cDNA), 재조합 DNA 또는 천연에 존재하지 않고 사람의 손으로 만들어지는 다른 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 특정 실시형태에서, 단리된 폴리뉴클레오타이드는 합성 폴리뉴클레오타이드, 반합성 폴리뉴클레오타이드 또는 재조합 공급원로부터 얻거나 유래된 폴리뉴클레오타이드이다.

[0390] 다양한 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 상정된 폴리펩타이드를 암호화하는 mRNA를 포함한다. 소정의 실시형태에서, mRNA는 캡, 하나 이상의 뉴클레오타이드 및 폴리(A) 꼬리를 포함한다.

[0391] 폴리뉴클레오타이드의 배향을 기재하는 용어는 하기를 포함한다: 5'(정상적으로는 유리 인산염기를 갖는 폴리뉴클레오타이드의 말단) 및 3'(정상적으로는 유리 하이드록실(OH) 기를 갖는 폴리뉴클레오타이드의 말단). 폴리뉴클레오타이드 서열은 5'에서 3' 배향 또는 3'에서 5' 배향으로 주석이 달릴 수 있다. DNA 및 mRNA에 대해, 5'에

서 3' 가닥은 "센스", "플러스" 또는 "암호화" 가닥으로 표기되는데, 그의 서열이 전전령(전mRNA)의 서열과 동일하기 때문이다[DNA에서 티민(T)을 대신하는 RNA에서의 유라실(U)을 제외함]. DNA 및 mRNA에 대해, RNA 중합효소에 의해 전사되는 가닥인 상보성 3'에서 5' 가닥은 "주형", "안티센스", "마이너스" 또는 "비암호화" 가닥으로 표기된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "역 배향"은 3'에서 5' 배향으로 기재된 5'에서 3' 서열 또는 5'에서 3' 배향으로 기재된 3'에서 5' 서열을 지칭한다.

[0392] 용어 "상보적" 및 "상보성"은 염기쌍 규칙과 관련된 폴리뉴클레오타이드(즉, 뉴클레오타이드의 서열)를 지칭한다. 예를 들어, DNA 서열 5' A G T C A T G 3'의 상보성 가닥은 3' T C A G T A C 5'이다. 후자의 서열은 종종 좌측 상에서 5' 말단 및 우측 상에서 3' 말단과 역 상보체로서 기재된다, 5' C A T G A C T 3'. 역 상보체와 동일한 서열은 회문구조 서열인 것으로 언급된다. 상보성은 "부분적"일 수 있는데, 이때 핵산의 염기 중 일부만이 염기쌍 규칙에 따라 매칭된다. 또는, 핵산 사이의 "완전한" 또는 "충" 상보성이 있을 수 있다.

[0393] 게다가, 유전자 암호 축퇴의 결과로서, 본 명세서에서 기재된 폴리펩타이드, 또는 이의 변이체의 단편을 암호화할 수 있는 다수의 뉴클레오타이드 서열이 있다는 것은 당업자에 의해 인식될 것이다. 이들 폴리뉴클레오타이드 중 일부는 임의의 천연 유전자의 뉴클레오타이드 서열에 대해 최소 상동성을 보유한다. 그럼에도 불구하고, 코돈출현빈도의 차이에 기인하여 변하는 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 인간 및/또는 영장류 코돈 선택을 위해 최적화된 폴리뉴클레오타이드가 특이적으로 상정된다. 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 발현 및/또는 안정성에 대해 코돈 최적화된다. 추가로, 본 명세서에 제공된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 유전자의 대립유전자가 또한 사용될 수 있다. 대립유전자는 하나 이상의 돌연변이, 예컨대 뉴클레오타이드의 결실, 첨가 및/또는 치환의 결과로서 변경된 내인성 폴리뉴클레오타이드 서열이다.

[0394] 본 명세서에서 사용되는 용어 "핵산 카세트" 또는 "발현 카세트"는 RNA, 및 후속적으로 폴리펩타이드를 발현시킬 수 있는 벡터 내의 유전자 서열을 지칭한다. 일 실시형태에서, 핵산 카세트는 관심 대상의 유전자(들), 예를 들어, 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드(들)를 함유한다. 다른 실시형태에서, 핵산 카세트는 하나 이상의 발현 제어 서열, 예를 들어, 프로모터, 인핸서, 폴리(A) 서열 및 관심대상의 유전자(들), 예를 들어, 관심대상의 폴리뉴클레오타이드(들)를 함유한다. 벡터는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이상의 핵산 카세트를 포함할 수 있다. 카세트 내 핵산이 RNA로 전사될 수 있고, 필요할 때, 단백질 또는 폴리펩타이드로 번역되며, 형질전환 세포에서 활성에 필요한 적절한 번역후 변형을 겪으며, 적절한 세포내 구획에 대한 표적화 또는 세포의 구획으로의 분비에 의해 생물학적 활성을 위한 적절한 구획으로 전좌되도록, 핵산 카세트는 벡터 내에서 위치적으로 그리고 순차적으로 배향된다. 바람직하게는, 카세트는 벡터 내로 용이한 삽입에 적합한 그의 3' 및 5' 말단을 가지며, 예를 들어, 그는 각각의 말단에서 제한 엔도뉴클레아제 부위를 가진다. 바람직한 실시형태에서, 핵산 카세트는 유전적 장애를 치료하거나, 예방하거나, 개선시키기 위해 사용되는 치료적 용도의 서열을 함유한다. 카세트는 제거될 수 있고, 단일 단위로서 플라스미드 또는 바이러스 벡터 내로 삽입된다.

[0395] 폴리뉴클레오타이드는 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드(들)를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "관심 대상의 폴리뉴클레오타이드"는 폴리펩타이드 또는 융합 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 또는 본 명세서에 상정된 저해 폴리뉴클레오타이드의 전사를 위한 주형으로서 작용하는 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0396] 암호 서열 그 자체의 길이와 상관없이, 본 명세서에 상정된 폴리뉴클레오타이드는 그들의 전체 길이가 상당히 다를 수 있도록, 본 명세서의 다른 곳에 개시되거나 또는 당업계에 공지된 바와 같이 다른 DNA 서열, 예컨대 프로모터 및/또는 인핸서, 비번역 영역(UTR), 신호 서열, 코작 서열, 폴리아데닐화 신호, 추가적인 제한 효소 부위, 다중 클로닝 부위, 내부 리보솜 유입 부위(IRES), 재조합효소 인식 부위(예를 들어, LoxP, FRT 및 Att 부위), 종결 코돈, 전사 종결 신호, 및 자기-절단성 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 에피토프 태그와 조합될 수 있다. 따라서 거의 임의의 길이의 폴리뉴클레오타이드 단편이 사용될 수 있으며, 총 길이가 제조의 용이함 및 의도된 재조합 DNA 프로토콜에서의 사용에 의해 바람직하게 제한된다는 것이 상정된다.

[0397] 폴리뉴클레오타이드는 당업계에 공지되고 이용 가능한 임의의 다양한 잘 확립된 기법을 이용하여 제조되고/되거나 조작되고/되거나 발현되고/되거나 전달될 수 있다. 목적으로 하는 폴리펩타이드를 발현시키기 위해, 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 적절한 벡터 내로 삽입될 수 있다.

[0398] 벡터의 예시적 예는 플라스미드, 자율적 복제 서열 및 전위요소, 예를 들어, 잠자는 미녀(Sleeping Beauty), 피기백(PiggyBac)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0399] 벡터의 추가적인 예시적 예는 플라스미드, 파지미드, 코스미드, 인공 염색체, 예컨대 효모 인공 염색체(YAC), 박테리아 인공 염색체(BAC) 또는 P1-유래 인공 염색체(PAC), 박테리오파지, 예컨대 람다 파지 또는 M13 파지 및

동물 바이러스를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

- [0400] 벡터로서 유용한 바이러스의 예시적 예는 레트로바이러스(렌티바이러스를 포함), 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 헤르페스바이러스(예를 들어, 단순 포진 바이러스), 폭스바이러스, 바쿨로바이러스, 유두종바이러스 및 과보바이러스(예를 들어, SV40)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0401] 발현 벡터의 예시적 예는 포유류 세포에서 발현을 위한 pCIneo 벡터(프로메가(Promega)); 포유류 세포에서 렌티 바이러스-매개 유전자 전달 및 발현을 위한 pLenti4/V5-DEST(상표명), pLenti6/V5-DEST(상표명) 및 pLenti6.2/V5-GW/lacZ(인비트로젠(Invitrogen))를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 폴리펩타이드의 암호 서열은 포유류 세포에서 폴리펩타이드의 발현을 위해 이러한 발현 벡터 내로 결합될 수 있다.
- [0402] 특정 실시형태에서, 벡터는 에피솜 벡터 또는 염색체외로 유지되는 벡터이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "에피솜"은 숙주의 염색체 DNA 내로의 통합 없이 그리고 분할 숙주 세포로부터의 점진적 상실 없이 복제할 수 있는 벡터를 지칭하는데, 또한 이는 상기 벡터가 염색체외로 또는 에피솜으로 복제한다는 것을 의미한다.
- [0403] 발현 벡터에 존재하는 "발현 제어 서열", "제어 요소" 또는 "조절 서열"은 벡터의 해당 비번역 영역(복제기점, 선택 카세트, 프로모터, 인핸서, 번역 개시 신호(샤인 달가노 서열 또는 코작 서열) 인트론, 폴리아데닐화 서열, 5' 및 3' 비번역 영역을 포함하지만, 이들로 제한되지 않음)이며, 이들 모두는 전사 및 번역을 수행하기 위해 숙주 세포 단백질과 상호작용한다. 이러한 요소는 그들의 강도 및 특이성이 다를 수 있다. 이용되는 벡터 시스템 및 숙주에 따라서, 편재성 프로모터 및 유도성 프로모터를 포함하는 다수의 적합한 전사 및 번역 요소가 사용될 수 있다.
- [0404] 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 발현 벡터 및 바이러스 벡터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 벡터를 포함한다. 벡터는 하나 이상의 외인성, 내인성, 또는 이중성 제어 서열, 예컨대 프로모터 및/또는 인핸서를 포함할 수 있다. "내인성 제어 서열"은 게놈 내 주어진 유전자와 자연적으로 연결된 것이다. "외인성 제어 서열"은 해당 유전자의 전사가 연결된 인핸서/프로모터에 의해 지시되도록 유전자 조작 수단(즉, 분자 생물학 기법)에 의해 유전자에 대한 병렬 배치로 위치되는 것이다. "이중성 제어 서열"은 유전자 조작 중인 세포와 상이한 종으로부터 유래된 외인성 서열이다. "합성" 제어 서열은 하나 이상의 내인성 및/또는 외인성 서열의 요소, 및/또는 특정 요법에 대해 최적의 프로모터 및/또는 인핸서 활성을 제공하는 시험관내 또는 인실리코로 결정된 서열을 포함할 수 있다.
- [0405] 본 명세서에서 사용되는 용어 "프로모터"는 RNA 중합효소에 결합하는 폴리뉴클레오타이드(DNA 또는 RNA)의 인식 부위를 지칭한다. RNA 중합효소는 프로모터에 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오타이드를 개시하고 전사시킨다. 특정 실시형태에서, 포유류 세포에서 작동성인 프로모터는 전사가 개시되는 부위로부터 상류의 대략 25 내지 30개 염기에 위치한 AT-풍부 영역 및/또는 전사 시작으로부터 상류의 70 내지 80개 염기로 발현되는 다른 서열, N이 임의의 뉴클레오타이드일 수 있는 CNCAAT 영역을 포함한다.
- [0406] 용어 "인핸서"는 향상된 전사를 제공할 수 있는 서열을 함유하는 DNA의 세그먼트를 지칭하며, 일부 예에서 다른 제어 서열에 비해 그들의 배향과 독립적으로 작용할 수 있다. 인핸서는 프로모터 및/또는 다른 인핸서 요소와 협응하여 또는 상가적으로 작용할 수 있다. 용어 "프로모터/인핸서"는 프로모터와 인핸서 기능을 둘 다 제공할 수 있는 서열을 함유하는 DNA의 세그먼트를 지칭한다.
- [0407] 용어 "작동 가능하게 연결된"은 병렬배치를 지칭하되, 기재된 성분인 그들의 의도된 방식으로 작용하도록 하는 관계이다. 일 실시형태에서, 상기 용어는 핵산 발현 제어 서열(예컨대 프로모터, 및/또는 인핸서)과 제2 폴리뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드 사이의 작용성 결합을 지칭하되, 발현 제어 서열은 제2 서열에 대응하는 핵산의 전사를 지시한다.
- [0408] 본 명세서에서 사용되는 용어 "구성적 발현 제어 서열"은 작동 가능하게 연결된 서열의 전사를 계속해서 또는 지속적으로 허용하는 프로모터, 인핸서, 또는 프로모터/인핸서를 지칭한다. 구성적 발현 제어 서열은 매우 다양한 세포 및 조직 유형에서의 발현을 허용하는 "편재성" 프로모터, 인핸서, 또는 프로모터/인핸서 또는 제한된 각각 다양한 세포 및 조직 유형에서의 발현을 허용하는 "세포 특이적", "세포 유형 특이적", "세포 계통 특이적" 또는 "조직 특이적" 프로모터, 인핸서 또는 프로모터/인핸서일 수 있다.
- [0409] 특정 실시형태에서 사용하는 데 적합한 예시적 편재성 발현 제어 서열은 거대세포바이러스(CMV) 급초기 프로모터, 바이러스 유인원 바이러스 40(SV40)(예를 들어, 초기 또는 후기), 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(MoMLV) LTR 프로모터, 라우스 육종 바이러스(RSV) LTR, 단순 포진 바이러스(HSV)(티미딘 키나제) 프로모터, 백시니아 바이

러스로부터의 H5, P7.5 및 P11 프로모터, 신장 인자 1-알파(EF1a) 프로모터, 초기 성장 반응 1(EGR1), 페리틴 H(FerH), 페리틴 L(FerL), 글리세르알데하이드 3-인산염 탈수소효소(GAPDH), 진핵 번역 개시 인자 4A1(EIF4A1), 열 충격 70kDa 단백질 5(HSPA5), 열 충격 단백질 90kDa 베타, 구성원 1(HSP90B1), 열 충격 단백질 70kDa(HSP70), β -키네신(β -KIN), 인간 ROSA 26 좌위(Irions *et al.*, *Nature Biotechnology* 25, 1477 - 1482 (2007)), 유비퀴틴 C 프로모터(UBC), 포스포글리세레이트 키나제-1(PGK) 프로모터, 거대세포바이러스 인핸서/닭 β -액틴(CAG) 프로모터, β -액틴 프로모터 및 골수증식성 육종 바이러스 인핸서, 결실된 음성 대조 영역, d1587rev 프라이머-결합 부위 치환된(MND) U3 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다(Haas *et al.* *Journal of Virology*. 2003;77(17): 9439-9450).

- [0410] 일 실시형태에서, 벡터는 MNDU3 프로모터를 포함한다.
- [0411] 일 실시형태에서, 벡터는 인간 EF1a 유전자의 제1 인트론을 포함하는 EF1a 프로모터를 포함한다.
- [0412] 일 실시형태에서, 벡터는 인간 EF1a 유전자의 제1 인트론을 결여하는 EF1a 프로모터를 포함한다.
- [0413] 특정 실시형태에서, 목적으로 하는 폴리뉴클레오타이드 서열의 세포 유형 특이적, 계통 특이적 또는 조직 특이적 발현을 달성하기 위해(예를 들어, 세포 유형, 세포 계통 또는 조직의 서브세트만의 또는 발생의 특정 단계 동안 폴리펩타이드를 암호화하는 특정 핵산을 발현시키기 위해) 세포, 세포 유형, 세포 계통 또는 조직 특이적 발현 제어 서열을 사용하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0414] 특정 실시형태에서, T 세포 특이적 프로모터의 폴리뉴클레오타이드를 발현시키는 것이 바람직할 수 있다.
- [0415] 본 명세서에서 사용되는, "조건적 발현"은 유도성 발현; 억제성 발현; 특정 생리적, 생물학적 또는 질환 상태 등을 갖는 세포 또는 조직에서의 발현을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 유형의 조건적 발현을 지칭할 수 있다. 이 정의는 세포 유형 또는 조직 특이적 발현을 제외하는 것으로 의도되지 않는다. 특정 실시형태는 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드의 조건적 발현을 제공하며, 예를 들어, 발현은 세포, 조직, 유기체 등에 폴리뉴클레오타이드가 발현되도록 야기하거나 또는 관심 대상의 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된 폴리뉴클레오타이드의 증가 또는 감소를 야기하는 처리 또는 조건을 실시함으로써 제어된다.
- [0416] 유도성 프로모터/시스템의 예시적 예는 스테로이드-유도성 프로모터, 예컨대 글루코코르티코이드 또는 에스트로젠 수용체를 암호화하는 유전자에 대한 프로모터(대응하는 호르몬에 의한 처리에 의한 유도성), 메탈로티오닌 프로모터(다양한 중금속에 의한 처리에 의한 유도성), MX-1 프로모터(인터페론에 의한 유도성), "진스위치(GeneSwitch)" 미페프리스톤-조절 가능 시스템(Sirin *et al.*, 2003, *Gene*, 323:67), 큐메이트 유도성 유전자 스위치(WO 2002/088346), 테트라사이클린-의존적 조절 시스템 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 유도제는 글루코코르티코이드, 에스트로젠, 미페프리스톤(RU486), 금속, 인터페론, 소분자, 큐메이트, 테트라사이클린, 독시사이클린 및 이들의 변이체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0417] 조건적 발현은 또한 부위 특이적 DNA 재조합효소를 이용함으로써 달성될 수 있다. 특정 실시형태에 따르면, 벡터는 부위 특이적 재조합효소에 의해 매개된 재조합을 위한 적어도 하나의(전형적으로 2개의) 부위(들)를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "재조합효소" 또는 "부위 특이적 재조합효소"는 하나 이상의 재조합 부위(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 15, 20, 30, 50개 등)를 수반하는 재조합 반응에 연루된 절단 또는 통합적 단백질, 효소, 보조 요소 또는 관련 단백질을 포함하는데, 이는 야생형 단백질(문헌[Landy, *Current Opinion in Biotechnology* 3:699-707(1993)] 참조) 또는 돌연변이체, 유도체(예를 들어, 재조합 단백질 서열 또는 이의 단편을 함유하는 융합 단백질), 이의 단편 및 변이체일 수 있다. 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 재조합효소의 예시적 예는 Cre, Int, IHF, Xis, Flp, Fis, Hin, Gin, Φ C31, Cin, Tn3 위치특이적 재조합촉진효소, TndX, XerC, XerD, TnpX, Hjc, Gin, SpCCE1 및 ParA를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0418] 폴리뉴클레오타이드는 임의의 매우 다양한 부위 특이적 재조합효소에 대한 하나 이상의 재조합 부위를 포함할 수 있다. 부위 특이적 재조합효소에 대한 표적 부위는 벡터, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터 또는 렌티바이러스 벡터의 통합에 필요한 임의의 부위(들)에 추가된다는 것이 이해되어야 한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "재조합 서열", "재조합 부위" 또는 "부위-특이적 재조합 부위"는 재조합효소가 인식하고 결합하는 특정 핵산 서열을 지칭한다.
- [0419] 예를 들어, Cre 재조합효소에 대한 하나의 재조합 부위는 8개의 염기쌍 코어 서열에 축적하는 2개의 13개 염기쌍 역위 반복부(재조합효소 결합 부위로서 작용)를 포함하는 34개의 염기쌍 서열인 loxP이다(문헌[Sauer, B., *Current Opinion in Biotechnology* 5:521-527(1994)]의 도 1 참조). 다른 예시적인 loxP 부위는 lox511(Hoess *et al.*, 1996; Bethke and Sauer, 1997), lox5171(Lee and Saito, 1998), lox2272 (Lee and Saito, 1998), m2

(Langer *et al.*, 2002), lox71(Albert *et al.*, 1995) 및 lox66(Albert *et al.*, 1995)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0420] FLP 재조합효소에 대한 적합한 인식 부위는 적합한 인식 부위는 FRT (McLeod, *et al.*, 1996), F₁, F₂, F₃(Schlake and Bode, 1994), F₄, F₅(Schlake and Bode, 1994), FRT(LE)(Senecoff *et al.*, 1988), FRT(RE)(Senecoff *et al.*, 1988)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0421] 인식 서열의 다른 예는 재조합효소 λ 인테그라제, 예를 들어, phi-c31에 의해 인식되는 attB, attP, attL, 및 attR 서열이다. ϕ C31 SSR은 이중성 부위 attB(길이가 34 bp)와 attP(길이가 39 bp)사이에서만 재조합을 매개한다(Groth *et al.*, 2000). 각각 박테리아 및 파지 게놈 상의 파지 인테그라제에 대한 부착 부위에 대해 명명되는 attB 및 attP는 둘 다 ϕ C31 동종이량체에 의해 결합될 가능성이 있는 불완전한 역위 반복부를 함유한다(Groth *et al.*, 2000). 산물 부위인 attL 및 attR은 추가적인 ϕ C31-매개 재조합으로 효과적으로 비활성이 되어(Belteki *et al.*, 2003), 반응을 비가역적으로 만든다. 삽입을 촉매하기 위해, attB-보유 DNA는 attP가 게놈 attB 부위 내로 삽입되는 것보다 더 용이하게 게놈 attP 부위 내로 삽입한다는 것을 발견하였다(Thyagarajan *et al.*, 2001; Belteki *et al.*, 2003). 따라서, 전형적인 전략은 정해진 좌위 내로 attP-보유 "도킹 부위"의 상동성 재조합에 의해 위치가 정해지며, 이는 이어서, 삽입을 위한 attB-보유 유입 서열과 짝지어진다.

[0422] 본 명세서에서 사용되는, "내부 리보솜 유입 부위" 또는 "IRES"는 시스트론(단백질 암호화 영역)의 개시 코돈, 예컨대 ATG에 대한 직접 내부 리보솜 유입을 촉진시킴으로써 유전자의 캡-독립적 번역을 야기하는 요소를 지칭한다. 예를 들어, 문헌[Jackson *et al.*, 1990. *Trends Biochem Sci* 15(12):477-83] 및 Jackson and Kaminski. 1995. *RNA* 1(10):985-1000] 참조. 당업자에 의해 일반적으로 사용되는 IRES의 예는 미국 특허 제6,692,736호에 기재된 것을 포함한다. 당업계에 공지된 "IRES"의 추가적인 예는 피코르나 바이러스로부터 얻을 수 있는 IRES(Jackson *et al.*, 1990) 및 바이러스 또는 세포 mRNA 공급원, 예를 들어, 면역글로불린 중쇄 결합 단백질(BiP), 혈관 내피 성장인자(VEGF)(Huez *et al.* 1998. *Mol. Cell. Biol.* 18(11):6178-6190), 섬유아세포 성장인자 2(FGF-2), 및 인슐린-유사 성장 인자(IGFII), 번역 개시 인자 eIF4G 및 효모 전사 인자 TFIID 및 HAP4, 노바겐(Novagen)으로부터 상업적으로 입수 가능한 뇌심근염 바이러스(EMCV)(Duke *et al.*, 1992. *J. Virol* 66(3):1602-9)로부터 얻을 수 있는 IRES 및 VEGF IRES(Huez *et al.*, 1998. *Mol Cell Biol* 18(11):6178-90)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. IRES는 또한 피코르나비리대(Picornaviridae), 디시스트로비리대(Dicistroviridae) 및 플라리비리대(Flaviviridae) 종의 바이러스 게놈에서 그리고 HCV, 프렌드 뮤린 백혈병 바이러스(FrMLV) 및 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(MoMLV)에서 보고되었다.

[0423] 일 실시형태에서, 본 명세서에서 상정된 폴리뉴클레오타이드에서 사용되는 IRES는 EMCV IRES이다.

[0424] 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 공통 코작 서열을 갖고 목적으로 하는 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "코작 서열"은 리보솜에 대한 mRNA의 초기 결합을 크게 용이하게 하고 번역을 증가시키는 짧은 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 공통 코작 서열은 (GCC)RCCATGG (서열번호 43)이며, 여기서 R은 퓨린(A 또는 G)이다(Kozak, 1986. *Cell.* 44(2):283-92, 및 Kozak, 1987. *Nucleic Acids Res.* 15(20):8125-48).

[0425] 이중성 핵산 전사체의 효율적인 종결 및 폴리아데닐화를 지시하는 요소는 이중성 유전자 발현을 증가시킨다. 전사 종결 신호는 일반적으로 폴리아데닐화 신호의 하류에서 발견된다. 특정 실시형태에서, 백터는 발현될 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 폴리아데닐화 서열 3' 을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "폴리A 부위 또는 "폴리A 서열"은 RNA 중합효소 II에 의한 초기 RNA 전사체의 종결과 폴리아데닐화를 둘 다 지시하는 DNA 서열을 의미한다. 폴리아데닐화 서열은 암호 서열의 3' 말단에 대한 폴리A 꼬리의 첨가에 의해 mRNA 안정성을 촉진시킬 수 있고, 따라서, 증가된 번역 효율에 기여한다. 절단 및 폴리아데닐화는 RNA에서 폴리(A) 서열에 의해 지시된다. 포유류 프레-mRNA에 대한 코어 폴리(A) 서열은 절단-폴리아데닐화 부위에 축적하는 2개의 인식 요소를 가진다. 전형적으로, 대부분의 비변이체 AAUAAA 핵사머는 U 또는 GU 잔기가 풍부한 더 가변적인 상류의 20 내지 50개 뉴클레오타이드에 놓인다. 초기 전사체의 절단은 이들 두 요소 사이에서 생기고, 5' 절단 생성물에 대한 250개까지의 아데노신의 첨가에 결합된다. 특정 실시형태에서, 코어 폴리(A) 서열은 이상적인 폴리A 서열(예를 들어, AATAAA, ATATAA, AGTAAA)이다. 특정 실시형태에서, 폴리(A) 서열은 SV40 폴리A 서열, 소 성장 호르몬 폴리A 서열(BGHpA), 토끼 β -글로빈 폴리A 서열(r β gpA), 이의 변이체, 또는 당업계에 공지된 다른 적합한 이중성 또는 내인성 폴리A 서열이다. 특정 실시형태에서, 폴리(A) 서열은 합성이다.

[0426] 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드를 보유하는 세포는 직접적인 독성 및/또는 비

제어 증식의 위험을 감소시키기 위해 유도성 자살 유전자를 포함하는 자살 유전자를 이용한다. 구체적 실시형태에서, 자살 유전자는 폴리뉴클레오타이드 또는 세포를 보유하는 숙주에 대해 면역원성이 아니다. 사용될 수 있는 자살 유전자의 특정 예는 카스파제-9 또는 카스파제-8 또는 사이토신 데아미나제이다. 카스파제-9는 이량체화(CID)의 특정 화학적 유도자를 이용하여 활성화될 수 있다.

[0427] 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 면역 효과기 세포, 예를 들어, T 세포가 생체내 음성 선택을 허용하게 하는 유전자 세그먼트를 포함한다. "음성 선택"은 주입 세포가 개체의 생체내 조건의 변화 결과로서 제거될 수 있다는 것을 의미한다. 음성 선택 가능한 표현형은 투여되는 제제, 예를 들어, 화합물에 대한 민감성을 부여하는 유전자의 삽입으로부터 초래될 수 있다. 음성 선택 가능한 유전자는 당업계에 공지되어 있으며, 특히 다음을 포함한다: 간사이클로비어 민감성을 부여하는 단순 포진 바이러스 I형 티미딘 키나제(HSV-I TK) 유전자 (Wigler *et al.*, *Cell* 11:223, 1977); 세포의 하이포크산틴 포스포리보실트랜스퍼라제(HPRT) 유전자, 세포의 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(APRT) 유전자 및 박테리아 사이토신 탈아미나제(Mullen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89:33(1992)).

[0428] 일부 실시형태에서, 유전자 변형된 면역 효과기 세포, 예컨대 T 세포는 시험관내에서 음성 선택 가능한 표현형의 세포 선택을 가능하게 하는 양성 마커를 더 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 양성 선택 가능 마커는 숙주 세포 내로 도입 시, 유전자를 운반하는 세포의 양성 선택을 허용하는 우성 표현형을 발현시키는 유전자일 수 있다. 이 유형의 유전자는 당업계에 공지되어 있으며, 특히, 하이그로마이신 B에 대한 내성을 부여하는 하이그로마이신-B 포스포트랜스퍼라제 유전자(hph), 항생제 G418에 대한 내성을 암호화하는 Tn5로부터의 아미노 글리코사이드 포스포트랜스퍼라제 유전자(neo 또는 aph), 다이하이드로엽산 환원효소(DHFR) 유전자, 아데노신 탈아미나제 유전자(ADA) 및 다제내성(MDR) 유전자를 포함한다.

[0429] 일 실시형태에서, 양성 선택 가능 마커 및 음성 선택 가능 요소는 음성 선택 가능 요소의 상실이 또한 양성 선택 가능 마커의 상실을 수반하도록 연결된다. 특정 실시형태에서, 양성 및 음성 선택 가능 마커는 하나의 상실이 다른 것의 상실을 필수적으로 야기하도록 융합된다. 발현 산물로서 상기 기재한 목적으로 하는 양성 및 음성 선택 특징을 부여하는 폴리펩타이드를 수득하는 융합된 폴리뉴클레오타이드는 예는 하이그로마이신 포스포트랜스퍼라제 티미딘 키나제 융합 유전자(HyTK)이다. 이 유전자의 발현은 시험관내 양성 선택을 위해 하이그로마이신 B 내성, 및 생체내 음성 선택을 위해 간사이클로비어 민감성을 부여하는 폴리펩타이드를 수득한다. 또한 우성 양성 선택 가능 마커를 음성 선택 가능 마커와 융합시키는 것으로부터 유래된 2작용성 선택 가능 유전자의 용도를 기재하는 S. D. Lupton에 의한 PCT US91/08442 및 PCT/US94/05601의 공보를 참조한다.

[0430] 바람직한 양성 선택 가능 마커는 hph, nco 및 gpt로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래되고, 바람직한 음성 선택 가능 마커는 사이토신 탈아미나제, HSV-I TK, VZV TK, HPRT, APRT 및 gpt로 이루어진 군으로부터 선택되는 유전자로부터 유래된다. 특정 실시형태에서 상정된 예시적인 2작용성 선택 가능한 융합 유전자는 유전자를 포함하지만, 이것으로 제한되지 않되, 양성 선택 가능 마커는 hph 또는 neo로부터 유래되고, 음성 선택 가능 마커는 사이토신 탈아미나제 또는 TK 유전자 또는 선택 가능한 마커로부터 유래된다.

[0431] 특정 실시형태에서, 하나 이상의 폴리펩타이드 또는 융합 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 면역 효과기 세포, 예를 들어, T 세포 내로, 비바이러스 및 바이러스적 방법에 의해 도입될 수 있다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드의 전달은 동일한 방법에 의해 또는 상이한 방법에 의해, 그리고/또는 동일한 벡터에 의해 또는 상이한 벡터에 의해 제공될 수 있다.

[0432] 용어 "벡터"는 다른 핵산 분자를 전달하거나 또는 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 전달된 핵산은 일반적으로 벡터 핵산 분자에 연결되고, 예를 들어, 이에 삽입된다. 벡터는 세포 내 자율 복제를 지시하는 서열을 포함할 수 있거나, 또는 숙주 세포 DNA 내로의 통합을 허용하기에 충분한 서열을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 비바이러스 벡터는 본 명세서에 상정된 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 T 세포에 전달하는 데 사용된다.

[0433] 비바이러스 벡터의 예시적 예는 플라스미드(예를 들어, DNA 플라스미드 또는 RNA 플라스미드), 트랜스포존, 코스미드 및 박테리아 인공 염색체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0434] 특정 실시형태에서 상정된 폴리뉴클레오타이드의 비바이러스 전달의 예시적 방법은 전기천공법, 초음파천공법, 리포펙션, 미량주사법, 유전자총법, 바이로솜, 리포솜, 면역리포솜, 나노입자, 다양이온 또는 지질:핵산 접합체, 네이키드 DNA, 인공 비리온, DEAE-텍스트란-매개 전달, 유전자 총 및 열-충격을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

- [0435] 특정 실시형태에 상정된 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 폴리뉴클레오타이드 전달 시스템의 예시적 예는 아막사 바이오시스템즈(Amaxa Biosystems), 맥사이트 인코포레이티드(Maxcyte, Inc.), BTX 몰레큘러 딜리버리 시스템즈(BTX Molecular Delivery Systems) 및 코페르니쿠스 세라퓨틱스 인코포레이티드(Copernicus Therapeutics Inc.)에 의해 제공된 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 리포펙션 시약은 상업적으로 시판된다(예를 들어, 트랜스펙탐(Transfectam)(상표명) 및 리포펙틴(Lipofectin)(상표명)). 폴리뉴클레오타이드의 효율적인 수용체-인식 리포펙션에 적합한 양이온성 및 중성 지질은 문헌에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Liu et al. (2003) *Gene Therapy*. 10:180-187; 및 Balazs et al. (2011) *Journal of Drug Delivery*. 2011:1-12] 참조. 항체-표적화된, 박테리아 유래된, 살아있지 않은 나노세포-기반 전달이 또한 특정 실시형태에서 상정된다.
- [0436] 특정 실시형태에서 상정된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 바이러스 벡터는 개개 환자에 대한 투여에 의해, 전형적으로 이하에 기재하는 바와 같이 전신 투여(예를 들어, 정맥내, 복강내, 근육내, 피하 또는 두개내 주입) 또는 국소 적용에 의해 생체내로 전달될 수 있다. 대안적으로, 벡터는 생체의 세포, 예컨대 개개 환자로부터 외식된 세포(예를 들어, 동원된 말초 혈액, 림프구, 골수 흡입물, 조직 생검 등) 또는 보존적 공여자 조혈 세포 세포에 전달될 수 있고, 다음에 환자 내로 세포의 재이식이 이어진다.
- [0437] 일 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 바이러스 벡터는 생체내 세포의 형질도입을 위해 유기체에 직접적으로 투여된다. 대안적으로, 네이키드 DNA가 투여될 수 있다. 투여는 주사, 주입, 국소 적용 및 전기천공법을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 혈액 또는 조직 세포와의 궁극적 접촉으로 분자를 도입하기 위해 정상적으로 사용되는 임의의 경로에 의한다. 특정 조성물을 투여하기 위해 하나 초과 경로가 사용될 수 있지만, 이러한 핵산을 투여하는 적합한 방법은 당업계에서 이용되고 잘 공지되어 있으며, 특정 경로는 종종 다른 경로보다 더 즉각적이고 더 효과적인 반응을 제공할 수 있다.
- [0438] 특정 실시형태에 상정된 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 바이러스 벡터 시스템의 예시적 예는 아데노-연관 바이러스(AAV), 레트로바이러스, 단순 포진 바이러스, 아데노바이러스 및 백시니아 바이러스 벡터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0439] 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 재조합 아데노-연관 바이러스(rAAV)를 이용하여 세포를 형질도입함으로써 면역 효과기 세포, 예를 들어, T 세포 내로 도입된다.
- [0440] AAV는 작은(대략 26nm) 복제-결함의, 주로 에피솅, 비외피 바이러스이다. AAV는 분할세포와 비분할 세포를 둘 다 감염시킬 수 있고, 숙주 세포 내로 그의 게놈을 혼입시킬 수 있다. 재조합 AAV(rAAV)는 전형적으로 최소, 이식유전자 및 그의 조절 서열, 및 5' 및 3' AAV 역위 말단 반복부(ITR)로 구성된다. ITR 서열은 길이가 약 145bp이다. 특정 실시형태에서, rAAV는 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 또는 AAV10로부터 단리된 ITR 및 캡시드 서열을 포함한다.
- [0441] 일부 실시형태에서, 키메라 rAAV가 사용되며, ITR 서열은 하나의 AAV 혈청형으로부터 단리되고, 캡시드 서열은 상이한 AAV 혈청형으로부터 단리된다. 예를 들어, AAV2로부터 유래된 ITR 서열 및 AAV6로부터 유래된 캡시드 서열을 갖는 rAAV는 AAV2/AAV6로서 지칭된다. 특정 실시형태에서, rAAV 벡터는 AAV2로부터의 ITR, 및 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9 또는 AAV10 중 어느 하나로부터의 캡시드 단백질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시형태에서, rAAV는 AAV2로부터 유래된 ITR 서열 및 AAV6로부터 유래된 캡시드 서열을 포함한다. 바람직한 실시형태에서, rAAV는 AAV2로부터 유래된 ITR 서열 및 AAV2로부터 유래된 캡시드 서열을 포함한다.
- [0442] 일부 실시형태에서, 조작 및 선택 방법은 관심 대상의 세포를 형질도입할 가능성을 더 만들기 위해 AAV 캡시드에 적용될 수 있다.
- [0443] rAAV 벡터의 작제, 이의 생산 및 정제는, 예를 들어, 미국 특허 제9,169,494호; 제9,169,492호; 제9,012,224호; 제8,889,641호; 제8,809,058호; 및 제8,784,799호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 포함된다.
- [0444] 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드는 레트로바이러스, 예를 들어, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 렌티바이러스를 이용하여 세포를 형질도입함으로써 면역 효과기 세포, 예를 들어, T 세포 내로 도입된다.

- [0445] 본 명세서에서 사용되는 용어 "레트로바이러스"는 그의 게놈 RNA를 선형 이중 가닥 DNA 복제물로 역전사시키고, 후속적으로 그의 게놈 DNA를 숙주 게놈 내로 공유적으로 통합시키는 RNA 바이러스를 지칭한다. 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 예시적인 레트로바이러스는 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(M-MuLV), 몰로니 뮤린 육종 바이러스(MoMSV), 하비 뮤린 육종 바이러스(HaMuSV), 뮤린 유방 종양 바이러스(MuMTV), 깃본 유인원 백혈병 바이러스(GaLV), 고양이 백혈병 바이러스(FLV), 스푸마바이러스, 프렌드 뮤린 백혈병 바이러스, 뮤린 줄기 세포 바이러스(MSCV) 및 라우스 육종 바이러스(RSV)) 및 렌티바이러스를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0446] 본 명세서에서 사용되는 용어 "렌티바이러스"는 복잡한 레트로바이러스의 군(또는 속)을 지칭한다. 예시적인 렌티바이러스는 HIV(인간 면역결핍 바이러스; HIV 1형, 및 HIV 2형을 포함); 비스나-메디 바이러스(VMV) 바이러스; 염소 관절염-뇌염바이러스(CAEV); 마 전염성 빈혈 바이러스(EIAV); 고양이 면역결핍 바이러스(FIV); 소 면역 결핍 바이러스(BIV); 및 시미안 면역결핍 바이러스(SIV)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, HIV 기반 벡터 골격(즉, HIV 시스-작용성 서열 요소)이 바람직하다.
- [0447] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 렌티바이러스 벡터는 하나 이상의 LTR, 및 다음의 부속 요소: cPPT/FLAP, Psi(Ψ) 패키징 신호, 유출 요소, 폴리(A) 서열 중 하나 이상 또는 모두를 포함하고, 선택적으로 본 명세서의 다른 곳에 논의된 바와 같이 WPRE 또는 HPRE, 절연체 요소, 선택 가능한 마커, 및 세포 자살 유전자를 포함할 수 있다.
- [0448] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 렌티바이러스 벡터는 통합적 또는 비통합적 또는 통합 결함 렌티바이러스일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "통합 결함 렌티바이러스" 또는 "IDLV"는 숙주 세포의 게놈 내로 바이러스 게놈을 통합하는 능력을 결여하는 인테그라제를 갖는 렌티바이러스를 지칭한다. 통합-부적격 바이러스 벡터는 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 특허 출원 WO 2006/010834에 기재되어 있다.
- [0449] 인테그라제 활성을 감소시키는 데 적합한 HIV-1 pol 유전자에서의 예시적인 돌연변이는 H12N, H12C, H16C, H16V, S81 R, D41A, K42A, H51A, Q53C, D55V, D64E, D64V, E69A, K71A, E85A, E87A, D116N, D116I, D116A, N120G, N120I, N120E, E152G, E152A, D35E, K156E, K156A, E157A, K159E, K159A, K160A, R166A, D167A, E170A, H171A, K173A, K186Q, K186T, K188T, E198A, R199c, R199T, R199A, D202A, K211A, Q214L, Q216L, Q221 L, W235F, W235E, K236S, K236A, K246A, G247W, D253A, R262A, R263A 및 K264H를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0450] 용어 "긴 말단 반복부(LTR)"는 그들의 천연 서열과 관련하여, 반복을 지시하고 U3, R 및 U5 영역을 함유하는 레트로바이러스 DNA의 말단에 위치한 염기쌍의 도메인을 지칭한다.
- [0451] 본 명세서에서 사용되는 용어 "FLAP 요소" 또는 "cPPT/FLAP"는 서열이 레트로바이러스, 예를 들어, HIV-1 또는 HIV-2의 중심 폴리펩티관 및 중심 종결 서열(cPPT 및 CTS)을 포함하는 핵산을 지칭한다. 적합한 FLAP 요소는 미국 특허 제6,682,907호에 그리고 문헌[Zennou, *et al.*, 2000, *Cell*, 101:173]에 기재되어 있다.
- [0452] 본 명세서에서 사용되는 용어 "패키징 신호" 또는 "패키징 서열"은 바이러스 캡시드 또는 입자 내로의 바이러스 RNA의 삽입에 필요한 레트로바이러스 게놈 내에 위치한 싸이[Ψ] 서열을 지칭한다. 예를 들어, 문헌[Clever *et al.*, 1995, *J. of Virology*, Vol. 69, No. 4; pp. 2101-2109] 참조.
- [0453] 용어 "유출 요소"는 세포의 핵으로부터 세포질까지 RNA 전사체의 수송을 조절하는 시스-작용성 전사후 조절 요소를 지칭한다. RNA 유출 요소의 예는 인간 면역결핍 바이러스(HIV) rev 반응 요소(RRE)(예를 들어, 문헌 [Cullen *et al.*, 1991, *J. Virol.* 65: 1053; 및 Cullen *et al.*, 1991, *Cell* 58: 423] 참조), 및 B형 간염 바이러스 전사후 조절 요소(HPRE)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0454] 특정 실시형태에서, 바이러스 벡터 내 이중성 서열의 발현은 전사후 조절 요소, 효율적인 폴리아데닐화 부위, 및 선택적으로, 전사 종결 신호를 벡터 내로 혼입함으로써 증가된다. 다양한 전사후 조절 요소, 예를 들어, 마멋 간염 바이러스 전사후 조절 요소(WPRE; Zufferey *et al.*, 1999, *J. Virol.*, 73:2886); B형 간염 바이러스에 존재하는 전사후 조절 요소(HPRE)(Huang *et al.*, *Mol. Cell. Biol.*, 5:3864); 등(Liu *et al.*, 1995, *Genes Dev.*, 9:1766)은 단백질에서 이중성 핵산의 발현을 증가시킬 수 있다.
- [0455] 렌티바이러스 벡터는 바람직하게는 LTR을 변형시키는 결과로서 몇몇 안전한 향상을 함유한다. "자기-비활성화"(SIN) 벡터는 복제-결함 벡터, 예를 들어, 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터를 지칭하며, 예를 들어, 이때 U3 영역으로서 알려진 우측(3') LTR 인핸서-프로모터 영역은 바이러스 복제의 제1 라운드 이후의 바이러스 전사를 방지하기 위해 (예를 들어, 결실 또는 치환에 의해) 변형되었다. 자기-비활성화는 벡터 DNA, 즉, 벡터

RNA를 생성하기 위해 사용한 DNA의 3' LTR의 U3 영역에서 결실의 도입을 통해 바람직하게 달성된다. 따라서, 역전사 동안, 이 결실은 프로바이러스 DNA의 5' LTR로 전달된다. 특정 실시형태에서, 이는 LTR의 전사 활성을 함께 크게 감소시키거나 또는 없애기 위해 충분한 U3 서열을 제거함으로써, 형질도입 세포에서 전장 벡터 RNA의 생성을 크게 감소시키거나 또는 없애는 것이 바람직할 수 있다. HIV 기반 렌티바이러스의 경우에, 벡터 역가의 상당한 감소 없이 이러한 벡터가 LTR TATA 박스의 제거(예를 들어, -418 내지 -18의 결실)를 포함하는 상당한 U3 결실을 용인한다는 것을 발견하였다.

- [0456] 추가적인 안전성 향상은 바이러스 입자의 생산 동안 바이러스 게놈의 전사를 유도하기 위해 5' LTR의 U3 영역을 이종성 프로모터로 대체함으로써 제공된다. 사용될 수 있는 이종성 프로모터의 예는, 예를 들어, 바이러스 유인원 바이러스 40(SV40)(예를 들어, 초기 또는 후기), 거대세포바이러스(CMV)(예를 들어, 급초기), 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(MoMLV), 라우스 육종 바이러스(RSV) 및 단순 포진 바이러스(HSV)(티미딘 키나제) 프로모터를 포함한다.
- [0457] 본 명세서에서 사용되는 용어 "위형" 또는 "위형별(pseudotyping)"은 바이러스 외피 단백질이 바람직한 특징을 갖는 다른 바이러스의 외피 단백질로 치환된 바이러스를 지칭한다. 예를 들어, HIV 외피 단백질(env 유전자에 의해 암호화)이 정상적으로는 바이러스를 CD4⁺ 제시 세포로 표적화하기 때문에, HIV가 매우 다양한 세포를 감염시키도록 허용하는 수포성 구내염 바이러스 G-단백질(VSV-G) 외피 단백질에 의해 HIV는 위형화될 수 있다.
- [0458] 특정 실시형태에서, 렌티바이러스 벡터는 공지된 방법에 따라 생산된다. 예를 들어, 문헌[Kutner *et al.*, *BMC Biotechnol.* 2009;9:10. doi: 10.1186/1472-6750-9-10; Kutner *et al. Nat. Protoc.* 2009;4(4):495-505. doi: 10.1038/nprot.2009.22] 참조.
- [0459] 본 명세서에 상정된 특정 구체적 실시형태에 따르면, 대부분의 또는 모든 바이러스 벡터 골격 서열은 렌티바이러스, 예를 들어, HIV-1로부터 유래된다. 그러나, 레트로바이러스 및/또는 렌티바이러스 서열의 다수의 상이한 공급원이 사용되거나 또는 조합될 수 있고, 특정 렌티바이러스 서열의 수많은 치환 및 변경은 본 명세서에 기재된 기능을 수행하는 전달 벡터의 능력을 손상시키는 일 없이 수용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 게다가, 다양한 렌티바이러스 벡터는 당업계에 공지되어 있으며(문헌[Naldini *et al.*, (1996a, 1996b 및 1998); Zufferey *et al.*, (1997); Dull *et al.*, 1998, 미국 특허 제6,013,516호; 및 제5,994,136호 참조), 이들 중 다수는 본 명세서에 상정된 바이러스 벡터 또는 전달 플라스미드를 생산하기에 적합할 수 있다.
- [0460] 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 아데노바이러스를 이용하여 세포를 형질도입함으로써 면역 효과기 세포 내로 도입된다.
- [0461] 아데노바이러스 기반 벡터는 다수의 세포 유형에서 매우 높은 형질도입 효율 능력이 있으며, 세포 분할을 필요로 하지 않는다. 이러한 벡터에 의해, 고역가 및 고수준의 발현이 얻어졌다. 이 벡터는 상대적으로 단순한 시스템에서 다량으로 생산될 수 있다. 이식유전자가 Ad E1a, E1b 및/또는 E3 유전자를 대체하고; 후속적으로 복제 결함 벡터가 도중에 결실된 유전자 기능을 공급하는 인간 293 세포에서 증식되도록 대부분의 아데노바이러스 벡터는 조작된다. Ad 벡터는 비분할, 분화 세포, 예컨대 간, 신장 및 근육에서 발견되는 것을 포함하는 생체내 다중 유형의 조직을 형질도입할 수 있다. 통상적인 Ad 벡터는 큰 운반 능력을 가진다.
- [0462] 복제 결여인 현재의 아데노바이러스 벡터의 생성 및 증식은 293으로 표기되는 독특한 헬퍼 세포주를 이용할 수 있는데, 이는 Ad5 DNA 단편에 의해 인간 배아 신장 세포로부터 형질전환되고, E1 단백질을 구성적으로 발현시킨다(Graham *et al.*, 1977). E3 영역은 아데노바이러스 게놈으로부터 필요 없기 때문에(Jones & Shenk, 1978), 293 세포의 도움으로 본 아데노바이러스 벡터는 E1, D3 중 하나 또는 영역 둘 다에서 외래 DNA를 운반한다(Graham & Prevec, 1991). 아데노바이러스 벡터는 진핵 유전자 발현(Levrero *et al.*, 1991; Gomez-Foix *et al.*, 1992) 및 백신 개발에서 사용되었다(Grünhaus & Horwitz, 1992; Graham & Prevec, 1992). 상이한 조직에 재조합 아데노바이러스를 투여하는 연구는 기관 점적(Rosenfeld *et al.*, 1991; Rosenfeld *et al.*, 1992), 근육 주사(Ragot *et al.*, 1993), 말초 정맥내 주사(Herz & Gerard, 1993) 및 뇌 내로의 정위 접종(Le Gal La Salle *et al.*, 1993)을 포함한다. 임상 시험에서 Ad 벡터사용의 예는 근육내 주사에 의한 항종양 면역화를 위한 폴리뉴클레오타이드 요법을 수반하였다(Sterman *et al.*, *Hum. Gene Ther.* 7:1083-9 (1998)).
- [0463] 다양한 실시형태에서, 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 단순 포진 바이러스, 예를 들어, HSV-1, HSV-2를 이용하여 세포를 형질도입함으로써 면역 효과기 세포 내로 도입된다.
- [0464] 성숙 HSV 비리온은 152kb인 선형 이중 가닥 DNA 분자로 이루어진 바이러스 게놈과 함께 외피 이십면체 캡시드로 이루어진다. 일 실시형태에서, HSV 기반 바이러스 벡터는 하나 이상의 필수 또는 비필수 HSV 유전자에서 결여된

다. 일 실시형태에서, HSV 기반 바이러스 벡터는 복제 결여이다. 대부분의 복제 결여 HSV 벡터는 복제를 방지하기 위해 하나 이상의 급초기, 초기 또는 후기 HSV 유전자를 제거하는 결실을 함유한다. 예를 들어, HSV 벡터는 ICP4, ICP22, ICP27, ICP47 및 이들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 급초기 유전자가 결여될 수 있다. HSV 벡터의 이점은 장기간 DNA 발현을 초래할 수 있는 잠복기로 유입되는 그의 능력 및 25kB까지의 외인성 DNA 삽입물을 수용할 수 있는 그의 거대 바이러스 DNA 게놈이다. HSV-기반 벡터는, 예를 들어, 미국 특허 제 5,837,532호, 제5,846,782호 및 제5,804,413호 및 국제 특허 출원 WO 91/02788, WO 96/04394, WO 98/15637 및 WO 99/06583에 기재되어 있고, 이들 각각은 그의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0465] **G. 유전자 변형된 세포**

[0466] 다양한 실시형태에서, 세포는 암 치료에서 사용하기 위한 본 명세서에 상정된 DARIC 면역 수용체, 조작된 TCR, CAR, 제타카인 및/또는 융합 단백질 발현시키기 위해 변형된다. 세포는 본 명세서에 상정된 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 비유전자적으로 변형될 수 있고, 또는 특히 바람직한 실시형태에서, 세포는 본 명세서에 상정된 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 유전자 변형될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "유전자 조작된" 또는 "유전자 변형된"은 세포 내 총 유전자 물질 내로 DNA 또는 RNA 형태로 여분의 유전자 물질의 첨가를 지칭한다. 용어, "유전자 변형된 세포", "변형된 세포" 및 "전향된 세포"는 특정 실시형태에서 상호 호환적으로 사용된다.

[0467] 특정 실시형태에서, DARIC 면역 수용체 본 명세서에 상정된 폴리펩타이드는 TME에서 면역억제 신호에 대한 세포의 내성을 개선시키기 위해 면역 효과기 세포에서 도입되고 발현된다. DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드는 세포에서 공동발현하는 조작된 항원 수용체 때문에 표적 세포에 보충된 면역 효과기 세포에서 도입되고 발현된다.

[0468] "면역 효과기 세포"는 하나 이상의 효과기 기능(예를 들어, 세포독성 세포 사멸 활성, 사이토카인의 분비, ADCC 및/또는 CDC의 유도)을 갖는 면역계의 임의의 세포이다. 본 명세서에 상정된 예시적인 면역 효과기 세포는 T 림프구, 특히 세포독성 T 세포(CTL; CD8⁺ T 세포), TIL 및 헬퍼 T 세포(HTL; CD4⁺ T 세포)이다. 일 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 자연 살해(NK) 세포를 포함한다. 일 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 자연 살해 T(NKT) 세포를 포함한다. 면역 효과기 세포는 자가/자율("자기") 또는 비-자가("비-자기", 예를 들어, 동종이계, 동계 또는 이종성)일 수 있다.

[0469] 본 명세서에서 사용되는 "자가"는 동일한 대상체로부터의 세포를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 "동종이계"는 비교하는 세포와 유전적으로 상이한 동일한 종의 세포를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 "동계"는 비교하는 세포와 유전적으로 동일한 상이한 대상체의 세포를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 "이종성"은 비교하는 세포와 상이한 종의 세포를 지칭한다. 바람직한 실시형태에서, 세포는 자가이다.

[0470] 본 명세서에 상정된 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 도입하는 데 적합한 예시적인 면역 효과기 세포는 T 림프구를 포함한다. 용어 "T 세포" 또는 "T 림프구"는 당업계에 인식되고, 흥선세포, 미숙 T 림프구, 성숙 T 림프구, 휴지 T 림프구 또는 활성화된 T 림프구를 포함하는 것으로 의도된다. T 세포는 T 헬퍼(Th) 세포, 예를 들어 T 헬퍼 1(Th1) 또는 T 헬퍼 2(Th2) 세포일 수 있다. T 세포는 헬퍼 T 세포(HTL; CD4⁺ T 세포), CD4⁺ T 세포, 세포독성 T 세포(CTL; CD8⁺ T 세포), CD4⁺CD8⁺ T 세포, CD4⁻CD8⁻ T 세포, 또는 T 세포의 임의의 다른 서브세트일 수 있다. 특정 실시형태에서 사용하기에 적합한 T 세포의 다른 예시적 집단은 미경험 T 세포 및 기억 T 세포를 포함한다.

[0471] 당업계에 이해되는 바와 같이, 다른 세포는 또한 본 명세서에 상정된 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 갖는 면역 효과기 세포로서 사용될 수 있다. 특히, 면역 효과기 세포는 또한 NK 세포, NKT 세포, 호중구 및 대식세포를 포함한다. 면역 효과기 세포는 또한 효과기 세포의 전구체를 포함하되, 이러한 전구체 세포는 생체내 또는 시험관내 면역 효과기 세포로 분화되도록 유도될 수 있다. 따라서, 특정 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 대상체에서 투여 시 성숙 면역 효과기 세포로 분화되거나, 또는 시험관내에서 성숙 면역 효과기 세포로 분화되도록 유도될 수 있는 제대혈, 골수 또는 이동된 말초 혈액으로부터 유래된 세포의 CD34⁺ 집단 내에 함유된 조혈 줄기 세포(HSC)와 같은 면역 효과기 세포의 전구체를 포함한다.

[0472] 특정 키메라 수용체를 함유하도록 유전자 조작된 본 명세서에 사용되는 바와 같은 면역 효과기 세포는 "항원 특이적인 다시 보내진 면역 효과기 세포"로서 지칭될 수 있다.

[0473] 본 명세서에서 사용되는 용어 "CD34⁺ 세포"는 그의 세포 표면 상에서 CD34 단백질을 발현시키는 세포를 지칭한다.

다. 본 명세서에서 사용되는 "CD34"는 종종 세포-세포 접촉 인자로서 작용하고 림프절 내로의 T 세포 유입에 연루된 세포 표면 당단백질(예를 들어, 시알로뮤신 단백질)을 지칭한다. CD34⁺ 세포 집단은 환자에게 투여 시 T 세포, NK 세포, NKT 세포, 호중구 및 단핵/대식세포 계통의 세포를 포함하는 모든 조혈 계통으로 분화되고 이에 기여하는 조혈 줄기 세포(HSC)를 함유한다.

- [0474] 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 발현시키는 면역 효과기 세포의 제조 방법이 특정 실시형태에서 제공된다. 일 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 핵산 및/또는 벡터 또는 이들의 조합을 갖는 면역 효과기 세포가 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 포함하도록 개체로부터 단리된 면역 효과기 세포를 형질감염 또는 형질도입하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 핵산 및/또는 벡터 또는 이들의 조합을 갖는 면역 효과기 세포가 본 명세서에 상정된 바와 같은 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 포함하도록, 개체로부터 단리된 면역 효과기 세포를 형질감염 또는 형질도입하는 단계를 포함한다. 특정 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 개체로부터 단리되고 시험관 내 추가 조작 없이 유전자 변형된다. 이어서, 이러한 세포는 개체에게 직접 재투여될 수 있다. 추가적 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 처음 활성화되고, 유전자 변형되기 전에 시험관내에서 증식되도록 자극된다. 이와 관련하여, 면역 효과기 세포는 유전자 변형되기 전에 그리고/또는 후에 배양될 수 있다.
- [0475] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 면역 효과기 세포의 시험관내 조작 또는 유전자 변형 전에, 세포의 공급원은 대상체로부터 얻어진다. 특정 실시형태에서, 변형된 면역 효과기 세포는 T 세포를 포함한다.
- [0476] T 세포는 말초혈액 단핵세포, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수, 흉수, 비장 조직 및 종양을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다수의 공급원으로부터 얻을 수 있다. 소정의 실시형태에서, T 세포는 당업자에게 공지된 다수의 기법, 예컨대, 침강, 예를 들어, FICOLL(상표명) 분리를 이용하여 대상체로부터 수집된 혈액 단위로부터 얻을 수 있다.
- [0477] 다른 실시형태에서, T 세포의 단리 또는 정제된 집단이 사용된다. 일부 실시형태에서, PBMC의 단리 후에, 세포 독성과 헬퍼 T 림프구는 둘 다 활성화, 확장 및/또는 유전자 변형 전에 또는 후에 미경험, 기억 및 효과기 T 세포 하위집단으로 분류될 수 있다.
- [0478] 일 실시형태에서, T 세포의 단리된 또는 정제된 집단은 CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ 또는 이들의 조합을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 하나 이상의 마커를 발현시킨다.
- [0479] 특정 실시형태에서, T 세포는 개체로부터 단리되고, 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 변형되기 전에 시험관내에서 증식하도록 처음 활성화되고 자극된다.
- [0480] 충분한 치료적 용량의 T 세포 조성물을 달성하기 위해, T 세포는 종종 자극, 활성화 및/또는 확장의 하나 이상의 라운드가 실시된다. T 세포는 일반적으로, 예를 들어, 각각 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 제 6,352,694호; 제6,534,055호; 제6,905,680호; 제6,692,964호; 제5,858,358; 제6,887,466호; 제6,905,681호; 제7,144,575호; 제7,067,318호; 제7,172,869호; 제7,232,566호; 제7,175,843호; 제5,883,223호; 제6,905,874호; 제6,797,514호; 및 제6,867,041호에 기재된 방법을 이용하여 활성화되고 확장될 수 있다. 특정 실시형태에서, T 세포는 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 암호화하는 벡터 또는 폴리뉴클레오타이드의 도입 전에 약 6시간, 약 12시간, 약 18시간 또는 약 24시간 동안 선택적으로 본 명세서에 상정된 조작된 항원 수용체와 조합하여 활성화되고, 확장된다.
- [0481] 일 실시형태에서, T 세포는 그들이 변형되는 것과 동시에 활성화된다.
- [0482] 다양한 실시형태에서, 면역 효과기 세포를 생성하는 방법은 T 세포를 포함하는 세포 집단을 활성화하는 단계 및 T 세포 집단을 확장시키는 단계를 포함한다. T 세포 활성화는 T 세포 TCR/CD3 복합체를 통한 1차 자극 신호를 제공함으로써 그리고 부속 분자, 예를 들어, CD28을 통해 2차 공자극 신호를 제공함으로써 달성될 수 있다.
- [0483] TCR/CD3 복합체는 T 세포를 적합한 CD3 결합체, 예를 들어, CD3 리간드 또는 항-CD3 단클론성 항체와 접촉시킴으로써 자극될 수 있다. CD3 항체의 예시적인 예는 OKT3, G19-4, BC3 및 64.1을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0484] TCR/CD3 복합체를 통해 제공된 1차 자극 신호에 추가로, T 세포 반응의 유도는 제2, 공자극 신호를 필요로 한다. 특정 실시형태에서, CD28 결합체는 공자극 신호를 제공하기 위해 사용될 수 있다. CD28 결합체의 예시적인 예는 천연 CD28 리간드, 예를 들어, CD28에 대한 천연 리간드(예를 들어, 단백질의 B7 패밀리의 구성원, 예

컨대 B7-1(CD80) 및 B7-2(CD86); 및 항-CD28 단클론성 항체 또는 CD28 분자와 가교할 수 있는 이의 단편, 예를 들어, 단클론성 항체 9.3, B-T3, XR-CD28, KOLT-2, 15E8, 248.23.2 및 EX5.3D10을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

- [0485] 일 실시형태에서, 1차 자극 신호를 제공하는 분자, 예를 들어 TCR/CD3 복합체를 통한 자극을 제공하는 분자 및 공자극 분자는 동일한 표면에 결합된다.
- [0486] 소정의 실시형태에서, 자극 및 공자극 신호를 제공하는 결합체는 세포 표면 상에서 국소화된다. 이는 세포 표면 상에서 그의 발현에 적합한 형태로 결합체를 암호화하는 핵산으로 세포를 형질감염 또는 형질도입함으로써 또는 대안적으로 세포 표면에 결합체를 결합시킴으로써 달성될 수 있다.
- [0487] 다른 실시형태에서, 1차 자극 신호를 제공하는 분자, 예를 들어 TCR/CD3 복합체를 통해 자극을 제공하는 분자 및 공자극 분자는 항원 제시 세포 상에 나타난다.
- [0488] 일 실시형태에서, 1차 자극 신호를 제공하는 분자, 예를 들어 TCR/CD3 복합체를 통해 자극을 제공하는 분자 및 공자극 분자는 별개의 표면 상에 제공된다.
- [0489] 소정의 실시형태에서, 자극 및 공자극 신호를 제공하는 결합체 중 하나는 가용성(용액 중에 제공됨)이며, 다른 제제(들)는 하나 이상의 표면 상에 제공된다.
- [0490] 특정 실시형태에서, 자극과 공자극 신호를 제공하는 결합체는 둘 다 가용성 형태로 제공된다(용액 중에 제공된다).
- [0491] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 T 세포의 제조 방법은 항-CD3 및 항-CD28 항체로 T 세포를 활성화시키는 단계를 포함한다.
- [0492] 일 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 방법에 의해 활성화된 T 세포를 확장시키는 것은 몇 시간(약 3시간) 내지 약 7일 내지 약 28일 또는 그 사이의 임의의 시간 정수 값 동안 T 세포를 포함하는 세포 집단을 배양시키는 단계를 추가로 포함한다. 다른 실시형태에서, T 세포 조성물은 14일 동안 배양될 수 있다. 특정 실시형태에서, T 세포는 약 21일 동안 배양된다. 다른 실시형태에서, T 세포 조성물은 약 2 내지 3일 동안 배양된다. T 세포의 배양 시간이 60일 이상일 수 있도록 몇 주기의 자극/활성화/확장이 또한 요망될 수 있다.
- [0493] 특정 실시형태에서, T 세포 배양에 적절한 조건은 적절한 배지(예를 들어, 최소 필수 배지 또는 RPMI 배지 1640 또는 X-vivo 15(론자(Lonza))) 및 혈청(예를 들어, 소 태아 또는 인간 혈청), 인터류킨-2(IL-2), 인슐린, IFN- γ , IL-4, IL-7, IL-21, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β 및 TNF- α 또는 당업자에게 알려진 세포 성장에 적합한 임의의 다른 첨가제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 증식 및 생존에 필수적인 하나 이상의 인자를 포함한다.
- [0494] 세포 배양 배지의 추가적인 예시적 예는 적절한 양의 혈청(또는 혈장) 또는 정해진 세트의 호르몬, 및/또는 T 세포의 성장 및 확장에 충분한 사이토카인(들)의 양으로 보충된 또는 무혈청인, 아미노산, 피루브산나트륨, 및 비타민이 첨가된, RPMI 1640, Clicks, AIM-V, DMEM, MEM, a-MEM, F-12, X-Vivo 15 및 X-Vivo 20, 옵티마이저를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0495] 항생제, 예를 들어, 페니실린 및 스트렙토마이신은 실험 배양물에만 포함되고, 대상체에게 주입될 세포의 배양물에는 포함되지 않는다. 표적 세포는 성장을 뒷받침하기 위해 필요한 조건, 예를 들어, 적절한 온도(예를 들어, 37°C) 및 분위기(예를 들어, 공기 + 5% CO₂) 하에 유지된다.
- [0496] 특정 실시형태에서, PBMC 또는 단리된 T 세포는 자극제 및 공자극제, 예컨대 항-CD3 및 항-CD28 항체와 접촉되고, 일반적으로 적절한 사이토카인, 예컨대 IL-2, IL-7 및/또는 IL-15가 있는 배양 배지에서, 비드 또는 다른 표면에 부착된다.
- [0497] 다른 실시형태에서, 인공 APC(aAPC)는 다양한 공자극 분자 및 사이토카인의 안정한 발현 및 분비를 지시하기 위해 K562, U937, 721.221, T2, 및 C1R 세포를 조작함으로써 만들어진다. 특정 실시형태에서 K32 또는 U32 aAPC는 APC 세포 표면 상에서 하나 이상의 항체-기반 자극 분자의 디스플레이를 지시하기 위해 사용된다. T 세포의 집단은 CD137L(4-1BBL), CD134L(OX40L), 및/또는 CD80 또는 CD86을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다양한 공자극 분자를 발현시키는 aAPC에 의해 확장될 수 있다. 최종적으로, aAPC는 유전자 변형된 T 세포를 확장시키기 위해 그리고 CD8 T 세포 상에서 CD28 발현을 유지하기 위해 효율적인 플랫폼을 제공한다. WO 03/057171 및 US2003/0147869에서 제공된 aAPC는 본 명세서에서 그들의 전문이 참고로 편입된다.

- [0498] 특정 실시형태에서, 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드 및 조작된 항원 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 T 세포 집단에 도입된다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 조작된 항원 수용체를 발현시키는 T 세포의 집단에 도입된다. 폴리뉴클레오타이드는 미세주입, 형질감염, 리포펙션, 열충격, 전기천공법, 형질도입, 유전자총, 미세주입, DEAE-텍스트란-매개 전달 등에 의해 T 세포 내로 도입될 수 있다.
- [0499] 바람직한 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 바이러스 형질도입에 의해 T 세포 내로 도입된다.
- [0500] 면역 효과기 세포 또는 CD34⁺ 세포 내로 폴리뉴클레오타이드를 도입하기에 적합한 바이러스 벡터 시스템의 예시적 예는 유전자 전달을 위해 아데노-연관 바이러스(AAV), 레트로바이러스, 단순포진 바이러스, 아데노바이러스, 백시니아 바이러스 벡터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0501] 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 AAV 형질도입에 의해 T 세포 내로 도입된다.
- [0502] 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 레트로바이러스 형질도입에 의해 T 세포 내로 도입된다.
- [0503] 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 렌티바이러스 형질도입에 의해 T 세포 내로 도입된다.
- [0504] 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 아데노바이러스 형질도입에 의해 T 세포 내로 도입된다.
- [0505] 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 단순포진바이러스 형질도입에 의해 T 세포 내로 도입된다.
- [0506] 일 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 백시니아 바이러스 형질도입에 의해 T 세포 내로 도입된다.
- [0507] **H. 조성물 및 제형**
- [0508] 본 명세서에 상정된 조성물은 하나 이상의 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 이를 포함하는 벡터, 유전자 변형된 면역 효과기 세포, 브리징 인자 등을 포함할 수 있다. 조성물은 약제학적 조성물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. "약제학적 조성물"은 단독으로 또는 한 가지 이상의 치료 양상과 조합하여 세포 또는 동물에게 투여를 위한 약제학적으로 허용 가능한 또는 생리적으로 허용 가능한 용액 중에서 제형화된 조성물을 지칭한다. 또한 원한다면, 조성물은 마찬가지로 다른 제제, 예컨대 사이토카인, 성장 인자, 호르몬, 소분자, 화학치료제, 프로드러그, 약물, 항체 또는 다른 다양한 약제학적 활성제와 조합하여 투여될 수 있다는 것이 이해될 것이다. 또한 조성물 중에 포함될 수 있는 다른 성분에 대한 제한은 사실상 없으며, 단, 추가적인 제제는 의도된 요법을 전달하기 위한 조성물의 능력에 유해하게 영향을 미치지 않는다.
- [0509] 어구 "약제학적으로 허용 가능한"은 타당한 의학적 판단의 범주 내에서, 합리적인 유해/유익비에 비례하여 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 본 명세서에서 해당 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투약 형태를 지칭하기 위해 사용된다.
- [0510] 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 이를 포함하는 벡터, 또는 유전자 변형된 면역 효과기 세포와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제 또는 비히클을 지칭한다. 약제학적 담체의 예시적 예는 멸균 액체, 예컨대 세포 배양 배지, 물 및 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 유래의 오일, 예컨대 땅콩유, 대두유, 광유, 참깨유 등일 수 있다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액은 또한 액체 담체로서, 특히 주사용 용액으로 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 적합한 약제학적 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 셀룰로스, 염화나트륨, 건조탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 임의의 통상적인 배지 또는 제제가 활성 성분에 적합하지 않은 경우를 제외하고, 치료 조성물에서의 그의 용도가 상정된다. 보충적 활성 성분이 또한 조성물 내로 혼입될 수 있다.
- [0511] 일 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물은 대상체에 대한 투여에 적합하다. 특정 실시형태에서, 담체를 포함하는 조성물은 비경구 투여, 예를 들어, 혈관내(정맥내 또는 동맥내), 복강내 또는 근육내 투여에 적합하다. 특정 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물은 심실내, 척수내 또는 척추강내에 적합하다. 약제학적으로 허용 가능한 담체 멸균 수용액, 세포 배양 배지 또는 분산물을 포함한다. 약제학적으로 활성인 물질에 대한 이러한 배지 및 제제의 사용은 당업계에 잘 공지되어 있다. 임의의 통상적인 배지 또는 제제가 브리징 인자, 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 이를 포함하는 벡터, 또는 유전자 변형된 면역 효과기 세포에 적합하지 않은 경우를 제외하고, 약제학적 조성물 중의 그의 용도가 상정된다.
- [0512] 특정 실시형태에서, 본 명세서에서 상정되는 조성물은 유전자 변형된 T 세포 및 약제학적으로 허용 가능한 담체

를 포함한다. 본 명세서에 상정된 세포 기반 조성물을 포함하는 조성물은 장용 또는 비경구 투여 방법에 의해 별개로 또는 목적으로 하는 치료 목적을 달성하기 위한 다른 적합한 화합물과 조합하여 투여될 수 있다.

- [0513] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 조성물은 브리징 인자 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다.
- [0514] 약제학적으로 허용 가능한 담체는 치료 중인 인간 대상체에 대한 투여에 적합하도록 충분히 고순도 그리고 충분히 낮은 독성을 가져야 한다. 추가로 조성물의 안정성을 유지하거나 또는 증가시켜야 한다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 액체 또는 고체일 수 있고, 조성물의 다른 성분과 조합될 때 목적으로 하는 벌크, 점조도 등을 제공하기 위해, 유념해둔 계획한 투여 방식으로 선택된다. 예를 들어, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 결합제 (예를 들어, 전호화된 메이즈 전분, 폴리비닐피롤리돈 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 등), 충전제 (예를 들어, 락토스 및 다른 당, 미정질 셀룰로스, 펙틴, 젤라틴, 황산칼슘, 에틸 셀룰로스, 폴리아크릴레이트, 인산 수소칼슘 등), 윤활제 (예를 들어, 스테아르산마그네슘, 툴크, 실리카, 콜로이드 이산화규소, 스테아르산, 금속 스테아레이트, 수소화된 식물성유, 옥수수 전분, 폴리에틸렌 글리콜, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨 등), 붕해제 (예를 들어, 전분, 글리콜산나트륨전분 등) 또는 습윤제 (예를 들어, 라우릴황산나트륨 등)일 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 상정된 조성물에 대한 다른 적합한 약제학적으로 허용 가능한 담체는 물, 염 용액, 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 아밀로스, 스테아르산마그네슘, 툴크, 규산, 점성 파라핀, 하이드록시메틸셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0515] 이러한 담체 용액은 또한 완충제, 희석제 및 다른 적합한 첨가제를 함유할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "완충제"는 화학적 구성이 pH의 상당한 변화없이 산 또는 염기를 중화시키는 용액 또는 액체를 지칭한다. 본 명세서에 상정된 완충제의 예는 들베코 인산염 완충 식염수(PBS), 링거 용액, 수 중 5% 텍스트로스(D5W), 정상/생리식염수(0.9% NaCl)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0516] 약제학적으로 허용 가능한 담체는 조성물의 pH를 약 7로 유지하기에 충분한 양으로 존재할 수 있다. 대안적으로, 조성물은 약 6.8 내지 약 7.4, 예를 들어, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3 및 7.4 범위의 pH를 가진다. 또 다른 실시형태에서, 조성물은 약 7.4의 pH를 가진다.
- [0517] 본 명세서에 상정된 조성물은 비독성의 약제학적으로 허용 가능한 배지를 포함할 수 있다. 조성물은 현탁액일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "현탁액"은 세포가 고체 지지체에 부착되지 않는 비부착 상태를 지칭한다. 예를 들어, 현탁액으로서 유지된 세포는 교반되거나 또는 휘저어질 수 있고, 지지체, 예컨대 배양 접시에 부착되지 않는다.
- [0518] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 조성물은 변형된 T 세포가 정맥내(IV) 등에서 허용 가능한 액체 배지 또는 용액, 예를 들어, 식염수 또는 무혈청 배지 내에서 분산되는 현탁액 중에서 제형화된다. 허용 가능한 희석제는 물, 링거용액, 등장성 염화나트륨(식염수) 용액, 무혈청 세포 배양 배지 및 저온 저장에 적합한 배지, 예를 들어, Cryostor(등록상표) 배지를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0519] 특정 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 인간 또는 동물 유래의 천연 단백질이 실질적으로 없고, 변형된 T 세포 집단을 포함하는 조성물을 저장하는 데 적합하다. 치료 조성물은 인간 환자에게 투여되도록 의도되고, 따라서 세포 배양 성분, 예컨대 소 혈청 알부민, 말 혈청 및 소태아 혈청이 실질적으로 없다.
- [0520] 일부 실시형태에서, 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 세포 배양 배지에서 제형화된다. 이러한 조성물은 인간 대상체에 대한 투여에 적합하다. 특정 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 세포 배양 배지는 무혈청 배지이다.
- [0521] 무혈청 배지는 단순화된 그리고 더 잘 한정된 조성물, 감소된 정도의 오염물질, 감염제의 잠재적 공급원의 제거 및 보다 저비용을 포함하는, 혈청 함유 배지 이상의 몇몇 이점을 가진다. 다양한 실시형태에서, 무혈청 배지는 무동물이며, 선택적으로 무단백질일 수 있다. 선택적으로, 배지는 생약제학적으로 허용 가능한 재조합 단백질을 함유할 수 있다. "무 동물" 배지는 성분이 비동물 공급원으로부터 유래된 배지를 지칭한다. 재조합 단백질은 무동물 배지에서 천연 동물 단백질을 대체하며, 영양분은 합성, 식물 또는 미생물 공급원으로부터 얻어진다. "무 단백질" 배지는 대조적으로 단백질이 실질적으로 없는 것으로 정의된다.
- [0522] 특정 조성물에서 사용되는 무혈청 배지의 예시적 예는 QBSF-60(퀄리티 바이올로지컬 인코포레이티드(Quality Biological, Inc.)), 스템프로-34(StemPro-34)(라이프 테크놀로지즈(Life Technologies)) 및 X-VIVO 10을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0523] 바람직한 실시형태에서, 변형된 T 세포를 포함하는 조성물은 PlasmaLyte에서 제형화된다.

- [0524] 다양한 실시형태에서, 변형된 T 세포를 포함하는 조성물은 동결보존 배지에서 제형화된다. 예를 들어, 동결보존제가 있는 동결보존 배지는 해동 후 높은 세포 생존도 결과를 유지하기 위해 사용될 수 있다. 특정 조성물에서 사용되는 동결보존 배지의 예시적 예는 CryoStor CS10, CryoStor CS5 및 CryoStor CS2를 포함하지만, 이들은 제한되지 않는다.
- [0525] 일 실시형태에서, 조성물은 50:50 PlasmaLyte A 대 CryoStor CS10을 포함하는 용액에서 제형화된다.
- [0526] 특정 실시형태에서, 조성물은 마이코플라스마, 내독소 및 미생물 오염물질이 실질적으로 없다. 내독소와 관련하여 "실질적으로 없다"는 생물체제에 대해 FDA에 의해 허용되는 것(5 EU/kg 체중/일의 총 내독소, 평균 70kg의 사람은 세포의 총 용량당 350 EU임)보다 세포의 용량당 내독소가 더 적다는 것을 의미한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 조성물은 약 0.5 EU/ml, 내지 약 5.0EU/ml, 또는 약 0.5EU/ml, 1.0EU/ml, 1.5EU/ml, 2.0EU/ml, 2.5EU/ml, 3.0EU/ml, 3.5EU/ml, 4.0EU/ml, 4.5 EU/ml 또는 5.0 EU/ml를 함유한다.
- [0527] 특정 실시형태에서, 약제학적으로 허용 가능한 담체 용액은, 예를 들어, 장용 및 비경구, 예를 들어, 혈관내, 정맥내, 동맥내, 골내, 심실내, 대뇌내, 두개내, 척수내, 척추강내 및 골수내 투여 및 제형을 포함하는 다양한 치료 요법에서 본 명세서에 기재된 특정 조성물을 이용하기 위한 적합한 투약 및 치료 요법의 개발과 같이, 당업자에게 잘 공지되어 있다. 본 명세서에 상정된 특정 실시형태는 다른 제형, 예컨대 약제학적 분야에 잘 공지되어 있고, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, volume I and volume II. 22nd Edition. Edited by Loyd V. Allen Jr. Philadelphia, PA: Pharmaceutical Press; 2012]에 기재되어 있는 것을 포함할 수 있다는 것은 당업자에 의해 이해될 것이다.
- [0528] 특정 실시형태에서, 조성물은 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 발현시키는 CAR T 세포를 포함하는 면역 효과기 세포의 양을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "양"은 임상 결과를 비롯한, 유리한 또는 목적으로 하는 예방적 또는 치료적 결과를 달성하기 위해, 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 등을 포함하는 세포의 "유효한 양" 또는 "유효량"을 지칭한다.
- [0529] "예방적 유효량"은 목적으로 하는 예방적 결과를 달성하는 데 효과적인 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드 등을 포함하는 세포의 양을 지칭한다. 전형적으로, 반드시지는 아니지만, 예방적 용량은 질환의 초기 전에 또는 초기에 대상체에서 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 적다.
- [0530] "치료적 유효량"은 대상체(예를 들어, 환자)를 "치료하는데" 효과적인 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 포함하는 세포의 양을 지칭한다. 치료적 양이 표시될 때, 투여될 조성물의 정확한 양은 환자(대상체)의 연령, 체중, 종양 크기, 감염 또는 전이 정도, 및 병태의 개체 차이를 고려하여 의사에 의해 결정될 수 있다. 본 명세서에 기재된 면역 효과기 세포를 포함하는 약제학적 조성물은 10^2 내지 10^{10} 개의 세포/kg 체중, 바람직하게는 10^5 내지 10^6 개의 세포/kg 체중(해당 범위 내의 모든 정수값을 포함)의 투약량으로 투여될 수 있다는 것이 일반적으로 언급될 수 있다. 세포수는 그에 포함된 세포 유형에서 조성물에 의도된 궁극의 용도에 의도될 것이다. 본 명세서에 제공된 용도에 대해, 세포는 일반적으로 1리터 이하의 용적이고, 500ml 이하, 심지어 250ml 또는 100ml 이하일 수 있다. 따라서, 목적으로 하는 세포의 밀도는 전형적으로 10^6 개 초과 의 세포/ml이고, 일반적으로 10^7 개 초과 의 세포/ml, 일반적으로 10^8 개 이상의 세포/ml이다. 임상적으로 적절한 수의 면역 세포가 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} 또는 10^{12} 개의 세포와 누적적으로 동일하거나 또는 초과하는 다중 주입으로 배분될 수 있다. 일부 실시형태에서, 특히 모든 주입 세포가 특정 표적 항원으로 전향되기 때문에, 10^6 개/킬로그램의 범위(10^6 내지 10^{11} 개/환자)에서 더 적은 수의 세포가 투여될 수 있다. 원한다면, 치료는 또한 면역 반응의 유도를 향상시키기 위해 본 명세서에 기재된 바와 같은 미토겐(예를 들어, PHA) 또는 림포카인, 사이토카인 및/또는 케모카인(예를 들어, IFN- γ , IL-2, IL-12, TNF-알파, IL-18 및 TNF-베타, GM-CSF, IL-4, IL-13, Flt3-L, RANTES, MIP1 α 등)의 투여를 포함할 수 있다.
- [0531] 일반적으로, 본 명세서에 기재된 바와 같이 활성화되고 확장된 세포를 포함하는 조성물은 면역 손상된 개체에서 생기는 질환의 치료 및 예방에서 이용될 수 있다. 특히, 본 명세서에 상정된 조성물은 암 치료에서 사용된다. 특정 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 단독으로 또는 담체, 희석제, 부형제와 그리고/또는 다른 성분, 예컨대 IL-2 또는 다른 사이토카인 또는 세포 집단과 조합하여 약제학적 조성물로서 투여될 수 있다.
- [0532] 특정 실시형태에서, 약제학적 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 또는 생리적으로 허용 가능한 담체, 희석제

또는 부형제와 조합된 유전자 변형 T 세포의 양을 포함한다.

[0533]

특정 실시형태에서, 조성물은 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 단독으로 또는 하나 이상의 치료제, 예컨대 방사선 요법, 화학요법, 이식, 면역요법, 호르몬 요법, 광역학 요법 등과 조합하여 포함하는 유효량의 면역 효과기 세포를 포함한다. 조성물은 또한 항생제와 조합하여 투여될 수 있다. 이러한 치료제는 본 명세서에 기재된 특정 질환 상태, 예컨대 특정 암을 위한 표준 치료로서 당업계에서 허용될 수 있다. 상정된 예시적 치료제는 사이토카인, 성장 인자, 스테로이드, NSAID, DMARD, 항-염증제, 화학치료제, 방사선치료제, 치료적 항체 또는 다른 활성 및 보조제를 포함한다.

[0534]

특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 포함하는 면역 효과기 세포를 포함하는 조성물은 다수의 화학치료제와 함께 투여될 수 있다. 화학치료제의 예시적 예는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 사이클로포스파마이드(사이톡산(CYTOXAN)(상표명)); 알킬 설포네이트, 예컨대 부설판, 임프로설판 및 피포설판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파, 및 유레도파; 에틸렌이민 및 알트레타민을 포함하는 메틸아멜라민, 트라이에틸렌멜라민, 트라이에틸렌포스포아마이드, 트라이에틸렌티오포스포아마이드 및 트라이메틸올로멜라민 레주메; 질소 머스터드, 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 클로로포스파마이드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로로에타민, 메클로로에타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비신, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 유라실 머스터드; 나이트로스유레아, 예컨대 카무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 항생제, 예컨대 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 칼리케아마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-다이아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신, 에피루비신, 예소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 무엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 유베니맥스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사제, 예컨대 메토티렉세이트 및 5-플루오로유라실(5-FU); 엽산 유사체, 예컨대 테노프테린, 메토티렉세이트, 프테로프테린, 트라이메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자유리딘, 카모푸르, 사이타라빈, 다이데옥시유리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘, 5-FU; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스탄올, 메피티오스탄, 테스톨락톤; 항-부신제, 예컨대 아미노글루테티마이드, 미토탄, 트라이로스탄; 엽산 보충제, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파마이드 글리코사이드; 아미노레블린산; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트라세이트; 데포파민; 데메콜신; 다이아지쿠온; 엘포미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에토글루시드; 질산갈륨; 하이드록시유레아; 렌티난; 로니다민; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 나이트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 포도필린산; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSK(등록상표); 라죽산; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아진산; 트리아아지쿠온; 2,2',2"-트라이클로로트라이에틸아민; 유레탄; 빈데신; 다카바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포브로만; 가사이토신; 아라비노사이드("Ara-C"); 사이클로포스파마이드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들어, 파클리탁셀(탁솔(TAXOL)(등록상표), 뉴저지주 프린스턴에 소재한 브리스틀-마이어스 스킵 옹콜로지(Bristol-Myers Squibb Oncology)) 및 도세탁셀(탁소텔(TAXOTERE)(등록상표), 프랑스 앙토니에 소재한 론-플랑크 로어(Rhone-Poulenc Rorer)); 클로람부실; 겐시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토티렉세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포사이드(VP-16); 이포스파마이드; 미토마이신 C; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 나벨빈; 노반트론; 테니포사이드; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포아이소머라제 저해제 RFS 2000; 다이플루오로메틸로미틴(DMFO); 레티노산 유도체, 예컨대 타르그레틴(Targretin)(상표명)(백사로텐), 판레틴(Panretin)(상표명)(알리트레티노인); ONTAK(상표명)(데니류킨 디프티톡스); 에스페라미신; 카페시타빈; 및 상기 중 어떤 것의 약제학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체를 포함한다. 또한, 예를 들어 타목시펜, 랄록시펜, 방향화효소 저해 4(5)-이미다졸, 4-하이드록시타목시펜, 트라이옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤 및 토레미펜(파레스톤(Fareston)); 및 항-안드로겐, 예컨대 플루타마이드, 닐루타마이드, 바이칼루타마이드, 류프롤라이드 및 고세렐린; 및 상기 중 어떤 것의 약제학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체를 포함하는, 암에 대해 호르몬 작용을 조절하거나 또는 저해하는 작용을 하는 항-호르몬제, 예컨대 항-에스트로겐이 본 정의에 포함된다.

[0535]

다양한 다른 치료제가 본 명세서에 기재된 조성물과 함께 사용될 수 있다. 일 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 포함하는 면역 효과기 세포를 포함하는 조성물은 항-염증제와 함께 투여된다. 항-염증제 또는 약물은 스테로이드 및 글루코코르티코이드(베타메타손, 부데소나이드, 텍사메타손, 하이드로코티손 아세테이트, 하이드로코티손, 하이드로코티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론, 프레드니손, 트리아미시놀론을 포함), 아스피린, 이부프로펜, 나프록센을 포함하는 비스테로이드 항-염증 약물

(NSAIDS), 메토티렉세이트, 설과살라진, 레플루노마이드, 항-TNF 의약, 사이클로포스파마이드 및 마이코페놀레이트를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0536] 다른 예시적 NSAID는 이부프로펜, 나프록센, 나프록센 나트륨, Cox-2 저해제, 예컨대 VIOXX(등록상표)(레페콕십) 및 셀레브렉스(CELEBREX)(등록상표)(셀레콕십) 및 시알릴레이트로 이루어진 군으로부터 선택된다. 예시적인 진통제는 아세트아마노펜, 옥시코돈, 프로폭시펜 하이드로클로라이드의 트라마돌로 이루어진 군으로부터 선택된다. 예시적인 글루코코르티코이드는 코티손, 텍사메타손, 하이드로코티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론 또는 프레드니손으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 예시적인 생물학적 반응 변형제는 세포 표면 마커(예를 들어, CD4, CD5 등), 사이토카인 저해제, 예컨대 TNF 길항제(예를 들어, 에타너셉트(엔브렐(ENBREL)(등록상표)), 아달리무맙(휴미라(HUMIRA)(등록상표)) 및 이플릭시맙(레미케이드(REMICADE)(등록상표)), 케모카인 저해제 및 접착 분자 저해제에 관련된 분자를 포함한다. 생물학적 반응 변형제는 단클론성 항체 뿐만 아니라 분자의 재조합 형태를 포함한다. 예시적인 DMARD는 아자티오프린, 사이클로포스파마이드, 사이클로스포린, 메토티렉세이트, 페니실라민, 레플루노마이드, 설과살라진, 하이드록시클로로퀸, 골드(Gold)(경구(아우라노핀) 및 근육내) 및 미노사이클린을 포함한다.

[0537] 본 명세서에 상정된 하나 이상의 DARIC 면역 수용체 폴리펩타이드를 포함하는 변형된 T 세포와의 병용하기에 적합한 치료 항체의 예시적 예는 아테졸리주맙, 아벨루맙, 바비투시맙, 베바시주맙(아바스틴), 비바투주맙, 블리나투모맙, 코나투무맙, 다라투무맙, 돌리고투맙, 다세투주맙, 달로투주맙, 둘바투맙, 엘로투주맙(HuLuc63), 겐투주맙, 이브리투모맙, 인다투시맙, 이노투주맙, 이필리루맙, 로르보투주맙, 루카투무맙, 밀라투주맙, 목세투모맙, 니블루맙, 오카라투주맙, 오파투무맙, 펌브롤리주맙, 리투시맙, 실투시맙, 테프로투무맙 및 유블리투시맙을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0538] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 조성물은 사이토카인과 함께 투여된다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 "사이토카인"은 세포내 매개체로서 다른 세포상에서 작용하는 하나의 세포 집단에 의해 방출된 단백질에 대한 일반 용어를 의미한다. 이러한 사이토카인의 예는 림포카인, 모노카인 및 전통적 폴리펩타이드 호르몬이다. 사이토카인 중에서 성장 호르몬, 예컨대 인간 성장 호르몬, N-메티오닐 인간 성장 호르몬, 및 소 성장 호르몬; 부갑상선 호르몬; 티록신; 인슐린; 프로인슐린; 릴렉신; 프로릴렉신; 당단백질 호르몬, 예컨대 여포 자극 호르몬(FSH), 갑상선 자극 호르몬(TSH) 및 황체형성 호르몬(LH); 간 성장 인자; 섬유아세포 성장 인자; 프로락틴; 태반 락토겐; 종양 괴사 인자-알파 및 -베타; 윌러-저해 물질; 마우스 성선자극호르몬-연관 펩타이드; 인히빈; 액티빈; 혈관내피성장인자; 인테그린; 트롬보포이에틴(TPO); 신경 성장 인자, 예컨대 NGF-베타; 혈소판-성장 인자; 형질전환 성장 인자(TGF), 예컨대 TGF-알파 및 TGF-베타; 인슐린-유사 성장 인자-I 및 -II; 에리트로포이에틴(EPO); 골유도 인자; 인터페론, 예컨대 인터페론-알파, 베타 및 -감마; 콜로니 자극 인자(CSF), 예컨대 대식세포-CSF(M-CSF); 과립구-대식세포-CSF(GM-CSF); 및 과립구-CSF(G-CSF); 인터류킨(IL), 예컨대 IL-1, IL-1알파, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, 종양 괴사 인자, 예컨대 TNF-알파 또는 TNF-베타; 및 LIF 및 키트 리간드(KL)를 포함하는 다른 폴리펩타이드 인자가 포함된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 사이토카인은 천연 공급원으로부터의 또는 재조합 세포 배양물 및 천연 서열 사이토카인의 생물학적으로 활성인 동등물로부터의 단백질을 포함한다.

[0539] **I. 치료 방법**

[0540] 본 명세서에 상정된 DARIC 면역 수용체를 포함하는 CAR T 세포를 포함하는 면역 효과기 세포는 암, GVHD, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환 또는 면역결핍증의 예방, 치료 및 개선에서 사용하기 위한 또는 암, GVHD, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환 또는 면역결핍증과 관련된 적어도 하나의 증상을 예방하거나, 치료하거나 또는 개선시키기 위한 양자 면역요법의 개선된 방법을 제공한다.

[0541] 본 명세서에 상정된 조작된 수용체 및 DARIC 면역 수용체를 포함하는 면역 효과기 세포는 암, GVHD, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환 또는 면역결핍증의 적어도 하나의 증상의 예방, 치료 또는 개선에서 사용하기 위한 개선된 약물 제품을 제공한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "약물 제품"은 본 명세서에 상정된 조성물 및 방법을 이용하여 생성된 변형된 세포에 관한 것이다. 특정 실시형태에서, 약물 제품은 유전자 변형된 면역 효과기 세포, 조작된 수용체를 포함하는 T 세포 또는 DARIC 면역 수용체를 발현시키기 위해 추가로 변형된 CAR T 세포를 포함한다. 게다가, 특정 실시형태에서 상정된 변형된 T 세포는 더 안전하고 더 효능있는 양자 세포 요법을 제공하는데, 이들이 T 세포 고갈에 대해 내성이고 지속된 요법을 야기할 수 있는 종양 미세환경에서 증가된 지속능력 및 지속성을 나타내기 때문이다.

[0542] 특정 실시형태에서, 조작된 수용체 및 DARIC 면역 수용체를 포함하는 유효량의 변형된 면역 효과기 세포 또는 T

세포가 대상체에게 투여되어 암, GVHD, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환 또는 면역결핍증의 적어도 하나의 증상을 예방하거나, 치료하거나, 개선시킨다.

- [0543] 특정 실시형태에서, 암의 적어도 하나의 증상을 예방하거나, 치료하거나, 개선시키는 방법은 DARIC 면역 수용체 및 조작된 TCR, CAR, 또는 세포를 종양 또는 암에 다시 보내는 다른 치료적 이식유전자를 포함하는 유효량의 변형된 면역 효과기 세포 또는 T 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 세포는 화학적으로 조절 가능한 면역 자극 신호를 전달함으로써 인해 종양 미세환경으로부터 면역 억제 신호에 대해 더 내성이 되기 때문에 유전자 변형된 세포는 더 오래가고 지속적인 약물 제형이다.
- [0544] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포는 고형 종양 또는 암의 치료에서 사용된다.
- [0545] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포는 부신암, 부신피질암종, 향문암, 맹장암, 별아교세포종, 비정형 유기형/간상 종양, 기저세포 암종, 담관암, 방광암, 골암, 뇌/CNS 암, 유방암, 기관지종양, 심장 종양, 자궁경부암, 담관암종, 연골육종, 척색종, 결장암, 결장직장암, 두개인두종, 관상피내암(DCIS) 자궁내막암, 상의세포종, 식도암, 감각신경모세포종, 유잉 육종, 두개의 생식세포종양, 성선의생식세포종양, 안암, 나팔관암, 섬유성 조직육종, 섬유육종, 담낭암, 위암, 위장유암종, 위장관기질 종양(GIST), 생식세포 종양, 신경교종, 교모세포종, 두경부암, 혈관모세포종, 간세포 암, 식도암, 안구내 흑색종, 카포시 육종, 신장암, 후두암, 평활근육종, 구순암, 지방육종, 간암, 폐암, 비소세포 폐암, 폐유암종, 악성 중피종, 수질암종, 수모세포종, 뇌수막종, 흑색종, 머켈 세포 암종, 정중선관 암종, 구강암, 점액육종, 골수이형성 증후군, 골수증식성 신생물, 비강 및 부비동암, 비인두암, 신경아세포종, 뱀지교종, 구강암, 구강암, 인두암, 골육종, 난소암, 췌장암, 췌장섬 세포 종양, 유두 암종, 부신결정종, 부갑상선암, 음경암, 인두암, 크롬친화세포종, 송과체종, 하수체종양, 흉막폐아세포종, 원발성 복막암, 전립선암, 직장암, 망막모세포종, 신세포 암종, 신우 및 요관암, 횡문근육종, 침샘암, 피지선암종, 피부암, 연조직 육종, 편평세포암종, 소세포폐암, 소장암, 위암, 땀샘 암종, 혈막종, 고환암, 인후암, 흉선암, 갑상선암, 요도암, 자궁암, 자궁 육종, 질암, 혈관암, 외음부암 및 율름 종양을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 고형암 또는 암의 치료에서 사용된다.
- [0546] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포는 간암, 췌장암, 폐암, 유방암, 방광암, 뇌암, 골암, 갑상선암, 신장암 또는 피부암을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 고형 종양 또는 암의 치료에서 사용된다.
- [0547] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포는 췌장, 방광 및 폐를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다양한 암의 치료에서 사용된다.
- [0548] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포는 액상암 또는 혈액학적 암의 치료에서 사용된다.
- [0549] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포는 백혈병, 림프종 및 다발성 골수종을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, B-세포 악성종양의 치료에서 사용된다.
- [0550] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포는 백혈병, 림프종 및 다발성 골수종: 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 골수아구성, 전골수구, 골수단핵구, 단핵구, 적백혈병, 모발세포 백혈병(HCL), 만성 림프구성 백혈병(CLL) 및 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수단핵구 백혈병(CMML) 및 진성 다혈구증, 호지킨 림프종, 결절성 림프구-우세형 호지킨 림프종, 버킷 림프종, 소형림프구성 림프종(SLL), 미만성 거대B-세포 림프종, 여포성 림프종, 면역아세포 거대 세포 림프종, 전구체 B-림프아구성 림프종, 맨틀 세포 림프종, 변연대 림프종, 균상식육종, 역형성 대세포 림프종, 세자리 증후군, 전구체 T-림프아구성 림프종, 다발성 골수종, 현성 다발성 골수종, 비정현 다발성 골수종, 형질세포 백혈병, 비분비 골수종, IgD 골수종, 골경화증 골수종, 단독골형질세포종 및 골수의 형질세포종을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 액체암의 치료에서 사용된다.
- [0551] 본 명세서에 상정된 방법에서 사용하기 위한 바람직한 세포는 자가/자율("자기") 세포, 바람직하게는 조혈세포, 더 바람직하게는 T 세포, 및 더 바람직하게는 면역 효과기 세포를 포함한다.
- [0552] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 상정된 치료적 유효량의 변형된 면역 효과기 세포 또는 이를 포함하는 조성물을 단독으로 또는 1종 이상의 치료제와 병용하여 이것이 필요한 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 특정 실시형태에서, 세포는 암, GVHD, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환, 또는 면역결핍이 발생할 위험에 있는 환자의 치료에서 사용된다. 따라서, 특정 실시형태는 질환의 적어도 하나의 증상의 치료 또는 예방 또는 개선이 필요한 대상체에게 치료적 유효량의 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포를 투여하는

것을 포함하는 암, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환 또는 면역결핍 중 적어도 하나의 증상의 치료 또는 예방 또는 개선을 포함한다.

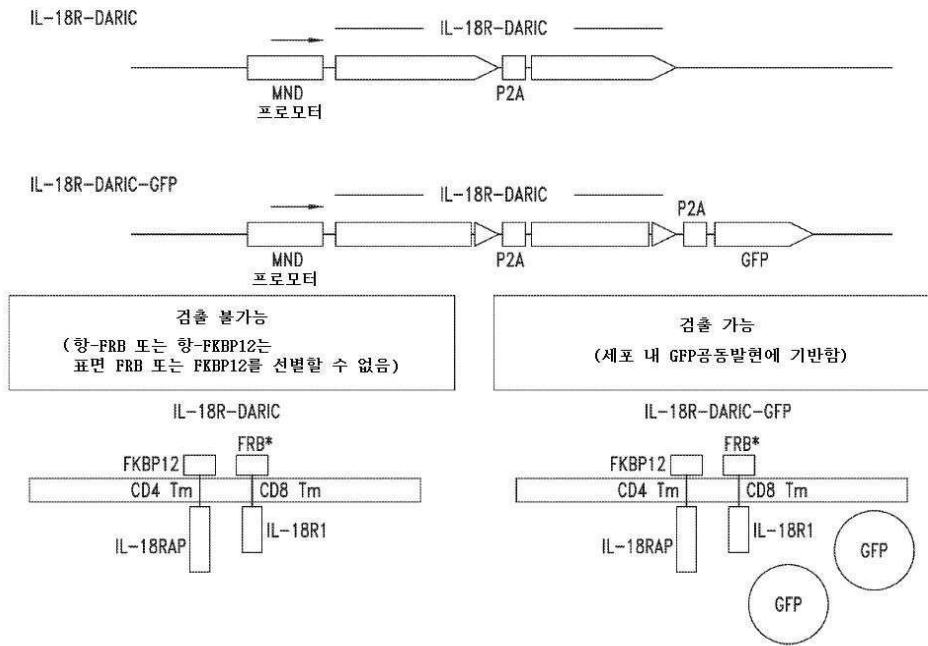
- [0553] 일 실시형태에서, 암, GVHD, 감염성 질환, 자가면역 질환, 염증성 질환, 또는 면역결핍증의 치료가 필요한 대상체에서 이를 치료하는 방법은 유효량, 예를 들어, 치료적 유효량의 본 명세서에 상정된 변형된 면역 효과기 세포를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 투여량 및 투여 빈도는 환자의 병태 및 환자 질환의 유형 및 중증도와 같은 인자에 의해 결정될 것이지만, 적절한 투약량은 임상 시험에 의해 결정될 수 있다.
- [0554] 일 예시적 실시형태에서, 대상체에게 제공되는 유효량의 변형된 면역 효과기 세포는 적어도 2×10^6 개의 세포/kg, 적어도 3×10^6 개의 세포/kg, 적어도 4×10^6 개의 세포/kg, 적어도 5×10^6 개의 세포/kg, 적어도 6×10^6 개의 세포/kg, 적어도 7×10^6 개의 세포/kg, 적어도 8×10^6 개의 세포/kg, 적어도 9×10^6 개의 세포/kg 또는 적어도 10×10^6 개의 세포/kg, 그 이상의 세포/kg(세포의 모든 개재 용량을 포함)이다.
- [0555] 다른 예시적 실시형태에서, 대상체에게 제공되는 유효량의 변형된 면역 효과기 세포는 약 2×10^6 개의 세포/kg, 약 3×10^6 개의 세포/kg, 약 4×10^6 개의 세포/kg, 약 5×10^6 개의 세포/kg, 약 6×10^6 개의 세포/kg, 약 7×10^6 개의 세포/kg, 약 8×10^6 개의 세포/kg, 약 9×10^6 개의 세포/kg 또는 약 10×10^6 개의 세포/kg, 또는 그 이상의 세포/kg(세포의 모든 개재 용량을 포함)이다.
- [0556] 다른 예시적 실시형태에서, 대상체에게 제공되는 유효량의 변형된 면역 효과기 세포는 약 2×10^6 개의 세포/kg 내지 약 10×10^6 개의 세포/kg, 약 3×10^6 개의 세포/kg 내지 약 10×10^6 개의 세포/kg, 약 4×10^6 개의 세포/kg 내지 약 10×10^6 개의 세포/kg, 약 5×10^6 개의 세포/kg 내지 약 10×10^6 개의 세포/kg, 2×10^6 개의 세포/kg 내지 약 6×10^6 개의 세포/kg, 2×10^6 개의 세포/kg 내지 약 7×10^6 개의 세포/kg, 2×10^6 개의 세포/kg 내지 약 8×10^6 개의 세포/kg, 3×10^6 개의 세포/kg 내지 약 6×10^6 개의 세포/kg, 3×10^6 개의 세포/kg 내지 약 7×10^6 개의 세포/kg, 3×10^6 개의 세포/kg 내지 약 8×10^6 개의 세포/kg, 4×10^6 개의 세포/kg 내지 약 6×10^6 개의 세포/kg, 4×10^6 개의 세포/kg 내지 약 7×10^6 개의 세포/kg, 4×10^6 개의 세포/kg 내지 약 8×10^6 개의 세포/kg, 5×10^6 개의 세포/kg 내지 약 6×10^6 개의 세포/kg, 5×10^6 개의 세포/kg 내지 약 7×10^6 개의 세포/kg, 5×10^6 개의 세포/kg 내지 약 8×10^6 개의 세포/kg, 또는 6×10^6 개의 세포/kg 내지 약 8×10^6 개의 세포/kg(세포의 모든 개재 용량을 포함)이다.
- [0557] 당업자는 특정 실시형태에서 상정된 조성물의 다중 투여가 목적으로 하는 요법을 달성하는 데 필요할 수 있다는 것을 인식할 것이다. 예를 들어, 조성물은 1주, 2주, 3주, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 1년, 2년, 5년, 10년 이상의 기간에 걸쳐 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10회 이상 투여될 수 있다.
- [0558] 특정 실시형태에서, 활성화된 T 세포를 대상체에게 투여하고, 이어서, 후속적으로 혈액을 재채혈하고(또는 성분 채집술이 수행됨), 이로부터 T 세포를 활성화시키고, 이들 활성화 및 확장된 T 세포를 환자에게 재주입하는 것이 바람직할 수 있다. 이 과정은 몇 주마다 다회 수행될 수 있다. 특정 실시형태에서, T 세포는 10cc 내지 400cc의 채혈로부터 활성화될 수 있다. 특정 실시형태에서, T 세포는 20cc, 30cc, 40cc, 50cc, 60cc, 70cc, 80cc, 90cc, 100cc, 150cc, 200cc, 250cc, 300cc, 350cc 또는 400cc 이상의 채혈로부터 활성화된다. 이론에 의해 구속되지 않고, 이런 다회 채혈/다중 재주입 프로토콜을 이용하는 것은 T 세포의 특정 집단을 선택하는 작용을 할 수 있다.
- [0559] 일 실시형태에서, 암으로 진단된 대상체를 치료하는 방법은 대상체로부터 면역 효과기 세포를 제거하는 단계, 조작된 항원 수용체 및 하나 이상의 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 벡터를 도입함으로써 면역 효과기 세포를 변형시키는 단계 및 변형된 면역 효과기 세포 집단을 생성하는 단계, 및 동일한 대상체에게 변형된 면역 효과기 세포의 집단을 투여하는 단계를 포함한다. 바람직한 실시형태에서, 면역 효과기 세포는 T 세포를 포함한다.
- [0560] 특정 실시형태에서 상정된 세포 조성물을 투여하는 방법은 생체의 변형된 면역 효과기 세포의 재도입에서 또는 대상체에 도입 시 성숙 면역 효과기 세포로 분화하는 면역 효과기 세포의 변형된 조상세포의 재도입에 대한 결과에 효과적인 임의의 방법을 포함한다. 한 가지 방법은 조작된 항원 수용체 및 하나 이상의 DARIC 면역 수용체를 암호화하는 하나 이상의 벡터를 도입함으로써 생체외에서 말초혈액 T 세포를 변형시키는 단계 및 형질도입된

세포를 대상으로 복귀시키는 단계를 포함한다.

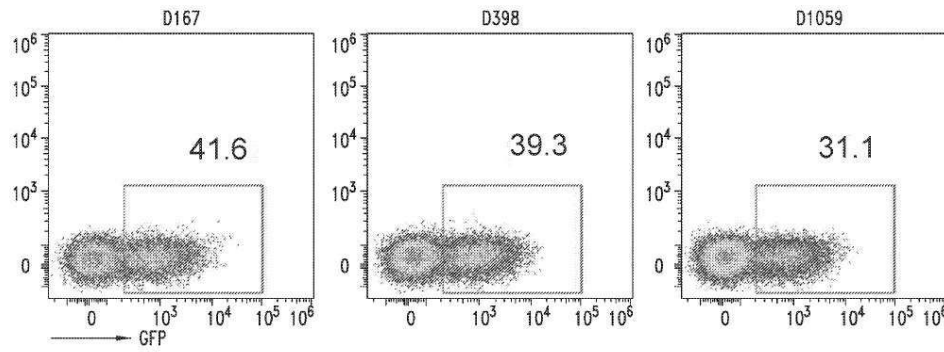
- [0561] 본 명세서의 모든 간행물, 특허 출원 및 공개된 특허는 각각의 개개 간행물, 특허 출원 또는 공개된 특허가 구체적이고 개별적으로 참고로 편입되도록 나타나는 것과 같이 본 명세서에 참고로 편입된다.
- [0562] 앞서 언급한 실시형태는 이해의 분명함의 목적을 위해 예시 및 실시예로 일부 상세하게 기재하였지만, 특정 변화 및 변형이 첨부된 청구범위의 정신 또는 범주로부터 벗어나는 일 없이 이루어질 수 있다는 것은 본 명세서에 상정된 교시에 비추어 당업자에게 용이하게 분명할 것이다. 다음의 실시예는 단지 예로서 제한의 방법에 의하지 않고 제공한다. 당업자는 본질적으로 유사한 결과를 획득하기 위해 특정 실시형태에서 변화 또는 변형될 수 있는 다양한 중요하지 않은 매개변수를 용이하게 인식할 것이다.
- [0563] **실시예**
- [0564] 실시예 1
- [0565] 라파마이신은 IL-18 수용체 DARIC T 세포에서 IFN γ 발현을 유도한다
- [0566] IL-18 수용체(IL-18R) DARIC 결합 및 신호전달 성분을 설계하고, 삭제하고, 검증하였다. DARIC 신호전달 성분(CD8 α -신호 펩타이드, FRB 변이체(T82L) 및 IL-18R1 막관통 및 신호전달 도메인); P2A 서열; 및 DARIC 결합 성분(Ig κ -신호 펩타이드, FKBP12 도메인 및 IL-18RAP 막관통 및 신호전달 도메인)을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 작동 가능하게 연결된 MNDU3 프로모터를 포함하는 IL-18R DARIC 렌티바이러스 벡터를 삭제하였다. P2A 서열 및 GFP를 암호화하는 다른 폴리뉴클레오타이드를 앞서 언급한 벡터에서 IL-18R1 신호전달 도메인을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 현수함으로써 IL-18R DARIC-GFP 렌티바이러스 벡터를 삭제하였다. IL-18R DARIC 및 IL-18R DARIC-GFP 렌티바이러스 벡터로 형질도입된 T 세포는 도 1a에 나타난 폴리펩타이드를 발현시킨다. 예를 들어, 서열번호 1 내지 4.
- [0567] GFP 발현을 IL-18R-DARIC-GFP를 암호화하는 LVV로 형질도입된 공여자 PBMC에서 측정하여 형질도입 효율을 평가하였다. 도 1b.
- [0568] IL-18R-DARIC-GFP를 암호화하는 LVV로 형질도입된 공여자 PBMC에서 세포 성장을 측정하였다. 형질도입된 세포는 비형질도입 대조군 PBMC와 유사한 성장 역학을 나타내었다. 도 1c.
- [0569] IL-18R-DARIC-GFP를 암호화하는 LVV로 형질도입된 공여자 PBMC에서 CD62L 및 CD45Ra 발현을 측정하였다. CD62L 및 CD45Ra 발현으로서 평가한 바와 같은 T 세포 소집단 발생은 IL-18R-DARIC-GFP 형질도입 세포 및 비형질도입 대조군에서 유사하였다. 도 1d.
- [0570] IL-18R-DARIC-GFP를 암호화하는 LVV로 공여자 PBMC를 형질도입하였다. 형질도입된 PBMC 및 비형질도입 대조군 PBMC를 50ng/ml의 인간 재조합 IL-12로 24시간 동안 사전처리하였다. 처리한 세포를 세척하고 나서, 배지 단독, 100ng/ml 인간 재조합 IL-18이 있는 배지 또는 1nM 라파마이신이 있는 배지에서 배양시켰다. IL-18에서 배양시킨 T 세포는 비형질도입 대조군과 IL-18R-DARIC-GFP로 형질도입된 세포 둘 다에서 증가된 IFN γ 생성을 나타내었다. 대조적으로, 라파마이신으로 처리했을 때 IL-18R-DARIC-GFP로 형질도입한 세포만이 증가된 IFN γ 생성을 나타내었다. 도 2.
- [0571] 일반적으로, 다음의 청구범위에서, 사용하는 용어는 본 명세서 및 청구범위에 개시된 구체적 실시형태로 청구범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 되며, 이러한 청구범위가 자격을 부여하는 균등론의 완전한 범주와 함께 모든 가능한 실시형태를 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 따라서, 청구범위는 본 개시내용에 의해 제한되지 않는다.

도면

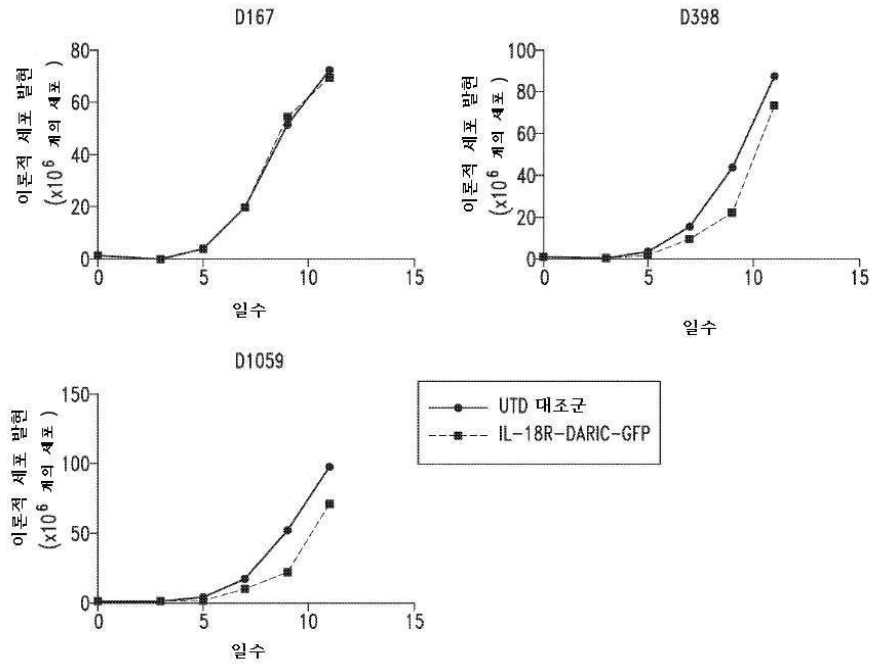
도면1a



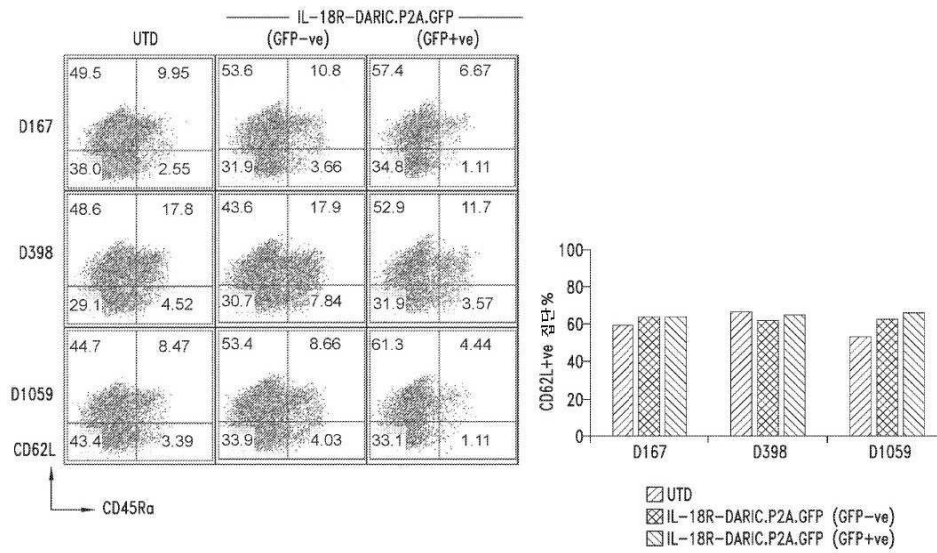
도면1b



도면1c



도면1d



His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu
 20 25 30
 Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys
 35 40 45
 Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly
 50 55 60
 Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp
 65 70 75 80

 Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn
 85 90 95
 Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg
 100 105 110
 Arg Ile Ser Lys Ala Ser Gly Met Ile Ile Ala Val Leu Ile Leu Val
 115 120 125
 Ala Val Val Cys Leu Val Thr Val Cys Val Ile Tyr Arg Val Asp Leu
 130 135 140

 Val Leu Phe Tyr Arg His Leu Thr Arg Arg Asp Glu Thr Leu Thr Asp
 145 150 155 160
 Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu Lys Glu Cys Arg Pro
 165 170 175
 Glu Asn Gly Glu Glu His Thr Phe Ala Val Glu Ile Leu Pro Arg Val
 180 185 190
 Leu Glu Lys His Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Glu Arg Asp Val
 195 200 205

 Val Pro Gly Gly Ala Val Val Asp Glu Ile His Ser Leu Ile Glu Lys
 210 215 220
 Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Lys Ser Tyr Met Ser Asn Glu
 225 230 235 240
 Val Arg Tyr Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu Ala Leu Val Glu Arg
 245 250 255
 Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro Val Thr Asp Phe Thr

Ala Val Val Cys Leu Val Thr Val Cys Val Ile Tyr Arg Val Asp Leu
 130 135 140

Val Leu Phe Tyr Arg His Leu Thr Arg Arg Asp Glu Thr Leu Thr Asp
 145 150 155 160

Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu Lys Glu Cys Arg Pro
 165 170 175

Glu Asn Gly Glu Glu His Thr Phe Ala Val Glu Ile Leu Pro Arg Val
 180 185 190

Leu Glu Lys His Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Glu Arg Asp Val
 195 200 205

Val Pro Gly Gly Ala Val Val Asp Glu Ile His Ser Leu Ile Glu Lys
 210 215 220

Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Lys Ser Tyr Met Ser Asn Glu
 225 230 235 240

Val Arg Tyr Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu Ala Leu Val Glu Arg
 245 250 255

Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro Val Thr Asp Phe Thr
 260 265 270

Phe Leu Pro Gln Ser Leu Lys Leu Leu Lys Ser His Arg Val Leu Lys
 275 280 285

Trp Lys Ala Asp Lys Ser Leu Ser Tyr Asn Ser Arg Phe Trp Lys Asn
 290 295 300

Leu Leu Tyr Leu Met Pro Ala Lys Thr Val Lys Pro Gly Arg Asp Glu
 305 310 315 320

Pro Glu Val Leu Pro Val Leu Ser Glu Ser Pro Arg Ser Gly Ser Gly
 325 330 335

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
 340 345 350

Pro Gly

<210> 3

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthesized IL-18R DARIC binding component

<400> 3

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly

 20 25 30

Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly

 35 40 45

Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys

 50 55 60

Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu

65 70 75 80

Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile

 85 90 95

Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro

 100 105 110

Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Gly

 115 120 125

Gly Arg Gly Val Val Leu Leu Tyr Ile Leu Leu Gly Thr Ile Gly Thr

 130 135 140

Leu Val Ala Val Leu Ala Ala Ser Ala Leu Leu Tyr Arg His Trp Ile

145 150 155 160

Glu Ile Val Leu Leu Tyr Arg Thr Tyr Gln Ser Lys Asp Gln Thr Leu

 165 170 175

Gly Asp Lys Lys Asp Phe Asp Ala Phe Val Ser Tyr Ala Lys Trp Ser

 180 185 190

Ser Phe Pro Ser Glu Ala Thr Ser Ser Leu Ser Glu Glu His Leu Ala

 195 200 205

Leu Ser Leu Phe Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Tyr Gly Tyr Ser Leu

Lys Phe Cys Tyr Phe Gln Glu Pro Glu Ser Leu Pro His Leu Val Lys
 290 295 300

Lys Ala Leu Arg Val Leu Pro Thr Val Thr Trp Arg Gly Leu Lys Ser
 305 310 315 320

Val Pro Pro Asn Ser Arg Phe Trp Ala Lys Met Arg Tyr His Met Pro
 325 330 335

Val Lys Asn Ser Gln Gly Phe Thr Trp Asn Gln Leu Arg Ile Thr Ser
 340 345 350

Arg Ile Phe Gln Trp Lys Gly Leu Ser Arg Thr Glu Thr Thr Gly Arg
 355 360 365

Ser Ser Gln Pro Lys Glu Trp
 370 375

<210> 5

<211> 729

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthesized IL-18R DARIC polyprotein comprising an IL-18R DARIC
 binding component and signaling component separated by a viral
 P2A domain

<400> 5

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu
 20 25 30

Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys
 35 40 45

Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly
 50 55 60

Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp
 65 70 75 80

Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn

	85	90	95
Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg			
	100	105	110
Arg Ile Ser Lys Ala Ser Gly Met Ile Ile Ala Val Leu Ile Leu Val			
	115	120	125
Ala Val Val Cys Leu Val Thr Val Cys Val Ile Tyr Arg Val Asp Leu			
	130	135	140
Val Leu Phe Tyr Arg His Leu Thr Arg Arg Asp Glu Thr Leu Thr Asp			
145	150	155	160
Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu Lys Glu Cys Arg Pro			
	165	170	175
Glu Asn Gly Glu Glu His Thr Phe Ala Val Glu Ile Leu Pro Arg Val			
	180	185	190
Leu Glu Lys His Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Glu Arg Asp Val			
	195	200	205
Val Pro Gly Gly Ala Val Val Asp Glu Ile His Ser Leu Ile Glu Lys			
	210	215	220
Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Lys Ser Tyr Met Ser Asn Glu			
225	230	235	240
Val Arg Tyr Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu Ala Leu Val Glu Arg			
	245	250	255
Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro Val Thr Asp Phe Thr			
	260	265	270
Phe Leu Pro Gln Ser Leu Lys Leu Leu Lys Ser His Arg Val Leu Lys			
	275	280	285
Trp Lys Ala Asp Lys Ser Leu Ser Tyr Asn Ser Arg Phe Trp Lys Asn			
	290	295	300
Leu Leu Tyr Leu Met Pro Ala Lys Thr Val Lys Pro Gly Arg Asp Glu			
305	310	315	320
Pro Glu Val Leu Pro Val Leu Ser Glu Ser Pro Arg Ser Gly Ser Gly			
	325	330	335

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
 340 345 350

Pro Gly Pro Ser Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu
 355 360 365

Leu Trp Val Pro Gly Ser Thr Gly Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser
 370 375 380

Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val
 385 390 395 400

His Tyr Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg
 405 410 415

Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile
 420 425 430

Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala
 435 440 445

Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro
 450 455 460

Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu
 465 470 475 480

Lys Leu Glu Gly Gly Arg Gly Val Val Leu Leu Tyr Ile Leu Leu Gly
 485 490 495

Thr Ile Gly Thr Leu Val Ala Val Leu Ala Ala Ser Ala Leu Leu Tyr
 500 505 510

Arg His Trp Ile Glu Ile Val Leu Leu Tyr Arg Thr Tyr Gln Ser Lys
 515 520 525

Asp Gln Thr Leu Gly Asp Lys Lys Asp Phe Asp Ala Phe Val Ser Tyr
 530 535 540

Ala Lys Trp Ser Ser Phe Pro Ser Glu Ala Thr Ser Ser Leu Ser Glu
 545 550 555 560

Glu His Leu Ala Leu Ser Leu Phe Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Tyr
 565 570 575

Gly Tyr Ser Leu Cys Leu Leu Glu Arg Asp Val Ala Pro Gly Gly Val

580 585 590
 Tyr Ala Glu Asp Ile Val Ser Ile Ile Lys Arg Ser Arg Arg Gly Ile
 595 600 605

Phe Ile Leu Ser Pro Asn Tyr Val Asn Gly Pro Ser Ile Phe Glu Leu
 610 615 620

Gln Ala Ala Val Asn Leu Ala Leu Asp Asp Gln Thr Leu Lys Leu Ile
 625 630 635 640

Leu Ile Lys Phe Cys Tyr Phe Gln Glu Pro Glu Ser Leu Pro His Leu
 645 650 655

Val Lys Lys Ala Leu Arg Val Leu Pro Thr Val Thr Trp Arg Gly Leu
 660 665 670

Lys Ser Val Pro Pro Asn Ser Arg Phe Trp Ala Lys Met Arg Tyr His
 675 680 685

Met Pro Val Lys Asn Ser Gln Gly Phe Thr Trp Asn Gln Leu Arg Ile
 690 695 700

Thr Ser Arg Ile Phe Gln Trp Lys Gly Leu Ser Arg Thr Glu Thr Thr
 705 710 715 720

Gly Arg Ser Ser Gln Pro Lys Glu Trp
 725

<210> 6

<211> 989

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Synthesized IL-18R DARIC -GFP polyprotein comprising an IL-18R
 DARIC binding component, signaling component, and GFP, each
 separated by a viral P2A domain

<400> 6

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Gly Ser Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu
 20 25 30

Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys
 35 40 45
 Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly
 50 55 60
 Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp
 65 70 75 80
 Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn
 85 90 95
 Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg
 100 105 110
 Arg Ile Ser Lys Ala Ser Gly Met Ile Ile Ala Val Leu Ile Leu Val
 115 120 125
 Ala Val Val Cys Leu Val Thr Val Cys Val Ile Tyr Arg Val Asp Leu
 130 135 140
 Val Leu Phe Tyr Arg His Leu Thr Arg Arg Asp Glu Thr Leu Thr Asp
 145 150 155 160
 Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu Lys Glu Cys Arg Pro
 165 170 175
 Glu Asn Gly Glu Glu His Thr Phe Ala Val Glu Ile Leu Pro Arg Val
 180 185 190
 Leu Glu Lys His Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Glu Arg Asp Val
 195 200 205
 Val Pro Gly Gly Ala Val Val Asp Glu Ile His Ser Leu Ile Glu Lys
 210 215 220
 Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Lys Ser Tyr Met Ser Asn Glu
 225 230 235 240
 Val Arg Tyr Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu Ala Leu Val Glu Arg
 245 250 255
 Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro Val Thr Asp Phe Thr
 260 265 270
 Phe Leu Pro Gln Ser Leu Lys Leu Leu Lys Ser His Arg Val Leu Lys

Asp Gln Thr Leu Gly Asp Lys Lys Asp Phe Asp Ala Phe Val Ser Tyr
 530 535 540
 Ala Lys Trp Ser Ser Phe Pro Ser Glu Ala Thr Ser Ser Leu Ser Glu

 545 550 555 560
 Glu His Leu Ala Leu Ser Leu Phe Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Tyr
 565 570 575
 Gly Tyr Ser Leu Cys Leu Leu Glu Arg Asp Val Ala Pro Gly Gly Val
 580 585 590
 Tyr Ala Glu Asp Ile Val Ser Ile Ile Lys Arg Ser Arg Arg Gly Ile
 595 600 605
 Phe Ile Leu Ser Pro Asn Tyr Val Asn Gly Pro Ser Ile Phe Glu Leu

 610 615 620
 Gln Ala Ala Val Asn Leu Ala Leu Asp Asp Gln Thr Leu Lys Leu Ile
 625 630 635 640
 Leu Ile Lys Phe Cys Tyr Phe Gln Glu Pro Glu Ser Leu Pro His Leu
 645 650 655
 Val Lys Lys Ala Leu Arg Val Leu Pro Thr Val Thr Trp Arg Gly Leu
 660 665 670
 Lys Ser Val Pro Pro Asn Ser Arg Phe Trp Ala Lys Met Arg Tyr His

 675 680 685
 Met Pro Val Lys Asn Ser Gln Gly Phe Thr Trp Asn Gln Leu Arg Ile
 690 695 700
 Thr Ser Arg Ile Phe Gln Trp Lys Gly Leu Ser Arg Thr Glu Thr Thr
 705 710 715 720
 Gly Arg Ser Ser Gln Pro Lys Glu Trp Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu
 725 730 735
 Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Ser Gly Met Val

 740 745 750
 Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu Val Glu
 755 760 765
 Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly Glu Gly

> Exemplary linker sequence

<400> 7

Gly Gly Gly

1

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 8

Asp Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 9

Thr Gly Glu Lys Pro

1 5

<210> 10

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 10

Gly Gly Arg Arg

1

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 11

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 12

Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Val Asp

1 5 10

<210> 13

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 13

Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser

1 5 10 15

Leu Asp

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 14

Gly Gly Arg Arg Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 15

Leu Arg Gln Arg Asp Gly Glu Arg Pro

1 5

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 16

Leu Arg Gln Lys Asp Gly Gly Gly Ser Glu Arg Pro

1 5 10

<210> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker sequence

<400> 17

Leu Arg Gln Lys Asp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Arg Pro

1 5 10 15

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cleavage sequence by TEV protease

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(3)

<223> Xaa is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa = Gly or Ser

<400> 18

Glu Xaa Xaa Tyr Xaa Gln Xaa

1 5

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cleavage sequence by TEV protease

<400> 19

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly

1 5

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cleavage sequence by TEV protease

<400> 20

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser

1 5

<210> 21

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 21

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210

> 22

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 22

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn

1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 23

Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro

1 5 10

<210> 24

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 24

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 25

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 25

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro

1 5 10 15

Gly Pro

<400> 29

Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

1 5 10

<210> 30

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 30

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala

1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

 20 25

<210> 31

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 31

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro

 20

<210> 32

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 32

Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

1 5 10

<210> 33

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 33

Leu Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn

1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 34

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 34

Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn

1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 35

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 35

Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

1 5 10

<210> 36

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 36

Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly

1 5 10 15

Pro

<210> 37

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 37

Gln Leu Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser

1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 38

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 38

Ala Pro Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly

1 5 10 15

Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 39

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 39

Val Thr Glu Leu Leu Tyr Arg Met Lys Arg Ala Glu Thr Tyr Cys Pro

1 5 10 15

Arg Pro Leu Leu Ala Ile His Pro Thr Glu Ala Arg His Lys Gln Lys

20 25 30

Ile Val Ala Pro Val Lys Gln Thr

35 40

<210> 40

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 40

Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro

1 5 10 15

Gly Pro

<210> 41

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 41

Leu Leu Ala Ile His Pro Thr Glu Ala Arg His Lys Gln Lys Ile Val

1 5 10 15

Ala Pro Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly

20 25 30

Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

35 40

<210> 42

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Self-cleaving polypeptide comprising 2A site

<400> 42

Glu Ala Arg His Lys Gln Lys Ile Val Ala Pro Val Lys Gln Thr Leu

1 5 10 15

Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly

 20 25 30

Pro

<210> 43

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Consensus Kozak sequence

<400> 43

gccrccatgg

10