

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202091091 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2021.02.18(22) Дата подачи заявки  
2018.11.01(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*C07K 16/28* (2006.01)  
*A61P 39/02* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)  
*C07K 14/725* (2006.01)  
*A61K 35/17* (2015.01)

## (54) ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ, СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ДЛЯ АНТИГЕНА СОЗРЕВАНИЯ В-КЛЕТОК (ВСМА)

(31) 62/580,439; 62/580,445; 62/582,932;  
62/582,938; 62/596,763; 62/596,765;  
62/614,960; 62/614,963; 62/665,442;  
62/665,447(32) 2017.11.01; 2017.11.01; 2017.11.07;  
2017.11.07; 2017.12.08; 2017.12.08;  
2018.01.08; 2018.01.08; 2018.05.01;  
2018.05.01

(33) US

(86) PCT/US2018/058811

(87) WO 2019/090003 2019.05.09

(88) 2019.09.19

(71) Заявитель:

ДЖУНО ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.;  
МЕМОРИАЛ СЛОАН КЕТТЕРИНГ  
КЭНСЕР СЕНТЕР (US)

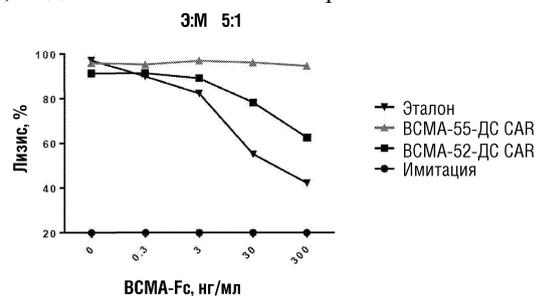
(72) Изобретатель:

Сейзер Блайт Д., Смит Эрик Л.,  
Амин Рупеш, Чэнь Айе, Харрингтон  
Кимберли, Хоскинс Коллин, Хесс  
Эрик, Де Имус Сир, Джоунс Джон,  
Олшефски Одри, Понко Стефан,  
Салмон Рут, Тарин Семих, Ву  
Ребекка, Чэнь Янь, Шамах Стивен М.,  
Пазмань Чаба, Датта-Симмонз  
Джуи, Стирнер Мариана Кота, Ворк  
Мелисса (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В настоящем документе предложены химерные антигенные рецепторы (CAR), содержащие внеклеточный ВСМА-связывающий домен, в частности scFv. CAR также содержит спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот, трансмембранный домен и внутриклеточную сигнальную область. Он также может содержать внутриклеточный костимулирующий домен. Также предложены генетически модифицированные клетки, экспрессирующие CAR, и варианты их применения, например, в адоптивной клеточной терапии.



A1

202091091

202091091

A1

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-562765EA/032

### **ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ, СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ДЛЯ АНТИГЕНА СОЗРЕВАНИЯ В-КЛЕТОК (ВСМА)**

#### **ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет на основании предварительной патентной заявки США 62/580439, поданной 1 ноября 2017 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», предварительной патентной заявки США № 62/580445, поданной 1 ноября 2017 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», предварительной патентной заявки США № 62/582932, поданной 7 ноября 2017 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», предварительной патентной заявки США № 62/582938, поданной 7 ноября 2017 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», предварительной патентной заявки США № 62/596765, поданной 8 декабря 2017 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», предварительной патентной заявки США № 62/596763, поданной 8 декабря 2017 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», предварительной патентной заявки США № 62/614960, поданной 8 января 2018 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», предварительной патентной заявки США № 62/614963, поданной 8 января 2018 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», предварительной патентной заявки США № 62/665442, поданной 1 мая, 2018 г., озаглавленной «CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS SPECIFIC FOR B-CELL MATURATION ANTIGEN AND ENCODING POLYNUCLEOTIDES», и предварительной патентной заявки США № 62/665447, поданной 1 мая 2018 г., озаглавленной «METHOD OF ASSESSING ACTIVITY OF RECOMBINANT ANTIGEN RECEPTORS», содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

#### **ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ СПИСКА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

[0002] Настоящая заявка была подана со списком последовательностей в электронном формате. Список последовательностей предоставлен в виде файла с названием 735042009940SeqList.txt, который был создан 1 ноября 2018 г. и имеет размер 593 килобайта. Информация в электронном формате, относящаяся к списку последовательностей, включена в настоящий документ посредством ссылки в полном

объеме.

## ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0003] Настоящее изобретение относится в некоторых аспектах к химерным антигенным рецепторам (CAR), содержащим фрагменты антитела, специфического для антигена созревания В-клеток (BCMA), и к полинуклеотидам, кодирующим CAR, специфический для BCMA. Изобретение также относится к генетически модифицированным клеткам, содержащим такие BCMA-связывающие рецепторы, и вариантам их применения в адоптивной клеточной терапии.

## ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Антиген созревания В-клеток (BCMA) представляет собой трансмембранный белок III типа, экспрессируемый на зрелых В-лимфоцитах. После связывания BCMA с его лигандами, активатором В-клеток семейства TNF (BAFF) или индуцирующим пролиферацию лигандом (APRIL), в В-клетки доставляется стимулирующий выживание клеточный сигнал, который, как показано, необходим для выживания плазматических клеток. Показано, что экспрессия BCMA связана с некоторыми заболеваниями, включая рак, аутоиммунные заболевания и инфекционные заболевания. Из-за роли BCMA в различных заболеваниях и состояниях, включая рак, BCMA является терапевтической мишенью. Доступны различные BCMA-связывающие химерные антигенные рецепторы (CAR) и клетки, экспрессирующие такие CAR. Однако сохраняется потребность в усовершенствованных BCMA-связывающих CAR и генетически модифицированных клетках, экспрессирующих нацеленный на BCMA CAR, например, для использования в адоптивной клеточной терапии. В настоящем документе предложены варианты осуществления, удовлетворяющие данную потребность.

## СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Настоящее изобретение относится к полинуклеотидам, кодирующим химерный антигенный рецептор, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген; (b) спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область, при этом после экспрессии полинуклеотида в клетке транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%. В некоторых случаях спейсер получен из иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит последовательность шарнирной области, областей CH2 и CH3. В некоторых вариантах осуществления одно или более из шарнира, CH2 и CH3 полностью или частично получены из IgG4 или IgG2. В некоторых случаях шарнир, CH2 и CH3 получены из IgG4. В некоторых аспектах одно или более из шарнира, CH2 и CH3 являются химерными и содержат последовательность из IgG4 и IgG2. В некоторых примерах спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2, область CH2 IgG2/4 и CH3 IgG4. В некоторых вариантах осуществления закодированный спейсер представляет собой или содержит (i) последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (ii) функциональный вариант SEQ ID

NO: 649, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 649; или (iii) непрерывный фрагмент из (i) или (ii) длиной по меньшей мере 125 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления закодированный спейсер представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649.

[0006] В некоторых из любых вариантов осуществления спейсер имеет длину 125-300 аминокислот, длину 125-250 аминокислот, длину 125-230 аминокислот, длину 125-200 аминокислот, длину 125-180 аминокислот, длину 125-150 аминокислот, длину 150-300 аминокислот, длину 150-250 аминокислот, длину 150-230 аминокислот, длину 150-200 аминокислот, длину 150-180 аминокислот, длину 180-300 аминокислот, длину 180-250 аминокислот, длину 180-230 аминокислот, длину 180-200 аминокислот, длину 200-300 аминокислот, длину 200-250 аминокислот, длину 200-230 аминокислот, длину 230-300 аминокислот, длину 230-250 аминокислот или длину 250-300 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет длину по меньшей мере или по меньшей мере примерно, или длину, или длину примерно 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 или 229 аминокислот, или длину в любом из перечисленных диапазонов.

[0007] В некоторых вариантах осуществления любых из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, нуклеиновая кислота, кодирующая спейсер, имеет по меньшей мере один модифицированный сайт донора сплайсинга и/или сайт акцептора сплайсинга, при этом указанный модифицированный сайт донора сплайсинга и/или сайт акцептора сплайсинга имеет одну или более нуклеотидных модификаций относительно эталонного сайта донора сплайсинга и/или эталонного сайта акцептора сплайсинга, содержащихся в последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 621. В некоторых случаях одна или более нуклеотидных модификаций включают вставку, делецию, замену или их сочетания. В некоторых случаях эталонный сайт(ы) акцептора сплайсинга и/или эталонный сайт(ы) донора сплайсинга являются каноническими, неканоническими или скрытыми сайтами сплайсинга. В некоторых примерах эталонный сайт(ы) донора сплайсинга и/или эталонный сайт(ы) акцептора сплайсинга имеют показатель прогнозирования сайта сплайсинга, составляющий по меньшей мере или примерно 0,4, 0,5, 0,6, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 0,99 или 1,0; и/или согласно предсказанию эталонный сайт(ы) донора сплайсинга, и/или эталонный сайт(ы) акцептора сплайсинга вовлечен(ы) в событие сплайсинга с вероятностью по меньшей мере 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100%.

[0008] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, эталонный сайт донора сплайсинга содержит последовательность aatctaagtagcgac (SEQ ID NO: 705), tcaactggtacgtgg (SEQ ID NO: 706), acaattagtaaggca (SEQ ID NO: 707) и/или accacaggtgtatac (SEQ ID NO: 708); и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга содержит последовательность aagttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID NO: 742) и/или

gggcaacgtgttctcttgacgtgtcatgcacgaagccctgc (SEQ ID NO: 743). В некоторых вариантах осуществления эталонный сайт(ы) донора сплайсинга и/или эталонный сайт(ы) акцептора сплайсинга имеют показатель прогнозирования сайта сплайсинга, составляющий по меньшей мере или примерно 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 0,99 или 1,0; и/или согласно предсказанию эталонный сайт(ы) донора сплайсинга, и/или эталонный сайт(ы) акцептора сплайсинга вовлечен(ы) в событие сплайсинга с вероятностью по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100%. В некоторых вариантах осуществления эталонный сайт донора сплайсинга содержит последовательность tcaactggtacgtgg (SEQ ID NO: 706); и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга содержит последовательность aagtttcttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID NO: 742).

[0009] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, по меньшей мере одна из одной или более нуклеотидных модификаций находится в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков от границы сайта сплайсинга эталонного сайта акцептора сплайсинга и/или эталонного сайта донора сплайсинга. В некоторых аспектах, одна или более нуклеотидных модификаций являются молчащими и/или приводят к вырожденному кодону в сравнении с SEQ ID NO: 621, и/или не изменяют аминокислотную последовательность закодированного спейсера. В некоторых вариантах осуществления модифицированный сайт донора сплайсинга имеет последовательность agtctaaatcggac (SEQ ID NO: 661), tcaactggtatgtgg (SEQ ID NO: 662), accatctccaaggcc (SEQ ID NO: 663) и/или gccccaggtttacac (SEQ ID NO: 664); и/или модифицированный сайт акцептора сплайсинга имеет последовательность cagtttcttctgtatagtagactcacctggataaatcaa (SEQ ID NO: 672), gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgc (SEQ ID NO: 673) и/или aagtttcttctgtattccagactgaccgtggataaatctc (SEQ ID NO: 854). В некоторых случаях модифицированный сайт донора сплайсинга имеет последовательность tcaactggtatgtgg (SEQ ID NO: 662), и/или модифицированный акцепторный сайт имеет последовательность cagtttcttctgtatagtagactcacctggataaatcaa (SEQ ID NO: 672). В некоторых из любых таких вариантов осуществления спейсер закодирован нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 622, или ее частью.

[0010] Предложен полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген; (b) спейсер, при этом кодирующая нуклеиновая кислота представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622, или кодирует аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

[0011] Также предложен полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген; (b) спейсер, при этом кодирующая нуклеиновая кислота включает или в основном включает последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622, или кодирует аминокислотную последовательность,

приведенную в SEQ ID NO: 649; (с) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

[0012] В некоторых из любых вариантов осуществления после экспрессии полинуклеотида в клетке транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%. В некоторых вариантах осуществления после экспрессии в клетке транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет сниженную гетерогенность в сравнении с гетерогенностью мРНК, транскрибированной с эталонного полинуклеотида, при этом указанный эталонный полинуклеотид кодирует ту же аминокислотную последовательность, что и конкретный полинуклеотид, при этом эталонный полинуклеотид отличается присутствием одного или более сайтов донора сплайсинга и/или одного или более сайтов акцептора сплайсинга в нуклеиновой кислоте, кодирующей спейсер, и/или имеет одну или более нуклеотидных модификаций в сравнении с конкретным полинуклеотидом. В некоторых случаях гетерогенность РНК снижена на более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более. В некоторых случаях транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с эталонного полинуклеотида имеет гетерогенность РНК более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более. В некоторых из любых таких вариантов осуществления гомогенность и/или гетерогенность РНК определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или жидкостной хроматографии. В некоторых из любых таких вариантов осуществления полинуклеотид является кодон-оптимизированным.

[0013] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, антиген связан с заболеванием или состоянием, или экспрессируется в клетках, окружающих лезию, связанную с заболеванием или состоянием. В некоторых случаях заболевание или состояние представляет собой рак. В некоторых примерах заболевание или состояние представляет собой миелому, лейкоз или лимфому. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой ROR1, антиген созревания В-клеток (BCMA), карбоангидразу 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (рецептор тирозинкиназы erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, мезотелин, SEA, поверхностный антиген вируса гепатита В, антифолатный рецептор, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, эпителиальный гликопротеин 2 (EPG-2), эпителиальный гликопротеин 40 (EPG-40), ERHa2, erb-B2, erb-B3, erb-B4, димеры erbB, EGFR vIII, фолат-связывающий белок (FBP), FCRL5, FCRH5, эмбриональный ацетилхолиновый рецептор, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-альфа, IL-13R-альфа2, рецептор домена киназной вставки (kdr), легкую цепь каппа, Lewis Y, L1-молекулу клеточной адгезии, (L1-CAM), меланома-ассоциированный антиген (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), сурвивин, TAG72, B7-H6, рецептор альфа 2 IL-13 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE A1, HLA-

A2 NY-ESO-1, PSCA, фолатный рецептор  $\alpha$ , CD44v6, CD44v7/8, интегрин  $\alpha v\beta 6$ , 8H9, NCAM, рецепторы VEGF, 5T4, эмбриональный AchR, лиганды NKG2D, CD44v6, двойной антиген, раково-тестикулярный антиген, мезотелин, мышинный CMV, муцин 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, онкоэмбриональный антиген, ROR1, TAG72, VEGF-R2, карциноэмбриональный антиген (CEA), Her2/neu, рецептор эстрогена, рецептор прогестерона, эфрин B2, CD123, c-Met, GD-2, O-ацетилированный GD2 (OGD2), CE7, антиген опухоли Вильмса 1 (WT-1), циклин, циклин A2, CCL-1, CD138, специфический для патогена антиген. В некоторых случаях антиген представляет собой антиген созревания В-клеток (BCMA).

[0014] В некоторых из любых таких вариантов осуществления антигенсвязывающий домен представляет собой фрагмент антитела, содержащий вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL). В некоторых аспектах область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609 617, 772-774 или 814-832; и/или область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849. В некоторых случаях область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 или 833-849.

[0015] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849. В некоторых вариантах осуществления область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной

последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 или 833-849. В некоторых вариантах осуществления область VH представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295507532, 593, 596, 604, 611; и/или (б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 594, 597, 605 или 612; и (с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595, 606, 613; и/или область VL представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589, 601, 607 или 614; (б) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590, 602, 608 или 615; и (с) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 или 603.

[0016] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 141, 143, 144, 288, 289, 507, 593, 604, 611; и/или (б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4, 5, 6, 145, 147, 148, 290, 291, 372, 513, 594, 605 или 612; и (с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 149, 153, 154, 155, 156, 157, 292, 293, 376, 517, 595, 606 или 613; и/или область VL представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 174, 176, 177, 178, 302, 303, 380, 381, 382, 589, 601, 607 или 614; (б) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37, 38, 39, 41, 43, 44, 179, 181, 182, 183, 304, 305, 399, 400, 401, 402, 590, 602, 608 или 615; и (с) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую

аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47, 48, 49, 51, 52, 55, 56, 185, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 306, 307, 415, 417, 418, 421, 591 или 603.

[0017] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 8, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 9, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 11, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 140, 145 и 149, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 149, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 150, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 142, 146 и 151, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 152, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 143, 147 и 153, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 144, 148 и 154, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 156, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 372 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 377, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 373 и 152, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 378, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 374 и 9, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-

НЗ, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 604, 605 и 606, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 290 и 292, соответственно; или CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно.

[0018] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 8, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 9, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 149, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 143, 147 и 153, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 144, 148 и 154, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 156, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 372 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 604, 605 и 606, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 290 и 292, соответственно; или CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно.

[0019] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-

256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832. В некоторых аспектах область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609 или 617. В некоторых вариантах осуществления область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно. В некоторых вариантах осуществления область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617.

[0020] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из: CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26, 37 и 47, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27, 38 и 48, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, 39 и 49, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 29, 40 и 50, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 39 и 51, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 31, 41 и 52, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 32, 42 и 53, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 39 и 54, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 55, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 34, 44 и 56, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, 45 и 57, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 36, 46 и 58, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 184, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 185, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 186, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 187, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 175, 180 и 188, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 189, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 176, 181 и 190, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 177, 182 и 191, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные



L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 589, 590 и 591, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 607, 608 и 591, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 302, 304 и 306, соответственно; или CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 303, 305 и 307, соответственно.

[0021] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из: CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26, 37 и 47, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27, 38 и 48, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, 39 и 49, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 39 и 51, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 31, 41 и 52, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 55, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 34, 44 и 56, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 185, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 189, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 176, 181 и 190, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 177, 182 и 191, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 192, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178, 183 и 193, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178, 183 и 194, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 399 и 415, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 380, 400 и 416, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 421, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 381, 401 и 417, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 382, 402 и 418, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 589, 590 и 591, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 607, 608 и 591, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 302, 304 и 306, соответственно; или CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 303, 305 и 307, соответственно.

[0022] В некоторых из любых таких вариантов осуществления область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849. В некоторых аспектах область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 или 833-849.

[0023] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно. В некоторых случаях область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618.

[0024] В некоторых из любых вариантов осуществления область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VH, представляющей собой любую из SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 или 814-832; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VL, представляющей собой любую из SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 или 833-849.

[0025] В некоторых из любых вариантов осуществления область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 или 814-832; и область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 или 833-849.

[0026] В некоторых из любых вариантов осуществления область VH представляет собой или содержит (a) CDR-H1, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 593, 611, 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295, 507, 532, 596 или 604; (b) CDR-H2,

содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 594, 612, 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 597 или 605; и (с) CDR-H3, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 595, 613, 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 или 606; и область VL представляет собой или содержит (а) CDR-L1, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 601, 614, 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 или 607; (b) CDR-L2, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 602, 615, 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 или 608; и (с) CDR-L3, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 603, 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433 или 591.

[0027] В некоторых из любых таких вариантов осуществления область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 122, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 122, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 123, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 123, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 112 и 124, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 112 и 124, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 113 и 125, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 113 и 125, соответственно; область VH и область VL содержат

















содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 830 и 847, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 830 и 847, соответственно; или область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 831 и 848, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 831 и 848, соответственно; или область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 832 и 849, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 832 и 849, соответственно.

[0029] В некоторых из любых вариантов осуществления область VH представляет собой или содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 или 814-832; и область VL представляет собой или содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 или 833-849.

[0030] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, фрагмент включает scFv. В некоторых вариантах осуществления область VH и область VL соединены гибким линкером. В некоторых вариантах осуществления scFv включает линкер, содержащий аминокислотную последовательность GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO: 361). В некоторых вариантах осуществления область VH является амино-концевой по отношению к области VL.

[0031] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 или 769-771, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 или 769-771. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 или 585, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 или 585.

[0032] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит (a) нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 330-352, 647, 648, 716 или 718; (b) нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 330-352, 647, 648, 716 или 718; или (c) вырожденную

последовательность из (a) или (b). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит (a) нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 352, 647, 648, 716 или 718; (b) нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 352, 647, 648, 716 или 718; или (c) вырожденную последовательность из (a) или (b). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, является кодон-оптимизированной. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 440, 460, 715, 717 или 719. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 460.

[0033] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, область VH является карбокси-концевой по отношению к области VL. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 328 или 586, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 328 или 586.

[0034] Предложены химерные антигенные рецепторы, содержащие: (1) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически связывающий человеческий антиген созревания В-клеток (BCMA), при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит: (i) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VH SEQ ID NO: 617; и (ii) переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VL SEQ ID NO: 618; (2) спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649, или нуклеиновая кислота, кодирующая спейсер, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622; (3) трансмембранный домен, необязательно, трансмембранный домен из человеческого CD28; и (4) внутриклеточную сигнальную область, содержащую цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ) и внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие такой химерный антигенный рецептор. В некоторых из любых вариантов осуществления область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH с последовательностью SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL с последовательностью SEQ ID NO: 618; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

[0035] Предложены химерные антигенные рецепторы, содержащие: (1) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически связывающий человеческий антиген созревания В-клеток (BCMA), при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит: переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH с последовательностью SEQ ID NO: 617; и переменную область легкой цепи (VL), содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL с последовательностью SEQ ID NO: 618; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH с последовательностью SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL с последовательностью SEQ ID NO: 618; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно; (2) спейсер с последовательностью SEQ ID NO: 649, или нуклеиновая кислота, кодирующая спейсер, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622; (3) трансмембранный домен, необязательно, трансмембранный домен из человеческого CD28; и (4) внутриклеточную сигнальную область, содержащую цитоплазматический сигнальный домен человеческой дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ) и внутриклеточный сигнальный домен человеческого 4-1BB или человеческого CD28. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие такой химерный антигенный рецептор. В некоторых из любых вариантов

осуществления внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит область VH с последовательностью SEQ ID NO: 617 и область VL с последовательностью SEQ ID NO: 618.

[0036] В некоторых вариантах осуществления рецептор содержит антигенсвязывающий домен, который связывает тот же, или практически тот же, эпитоп на ВСМА, или конкурирует за связывание с ВСМА с любым из антител и фрагментов, или антител, имеющих предложенные сочетания последовательностей VH/VL или CDR, описанных в настоящем документе, в том числе, в любом из вышеуказанных вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления связывающий домен узнает эпитоп, содержащий часть одной или более аминокислотных последовательностей в полипептиде ВСМА. В некоторых аспектах такие одна или более аминокислотных последовательностей представляют собой или содержат: MLMAG (SEQ ID NO: 640), YFDSL (SEQ ID NO: 779) и QLRCSSNTPPL (SEQ ID NO: 642). В некоторых аспектах такие одна или более аминокислотных последовательностей представляют собой или содержат: MLMAG (SEQ ID NO: 640), YFDSL (SEQ ID NO: 641) и QLRCSSNTPPL (SEQ ID NO: 642). В некоторых аспектах такие одна или более аминокислотных последовательностей представляют собой или содержат: MLMAG (SEQ ID NO: 640), QNEYFDSL (SEQ ID NO: 780) и QLRCSSNTPPL (SEQ ID NO: 642). В некоторых аспектах такие одна или более аминокислотных последовательностей представляют собой или содержат: QNEYF (SEQ ID NO: 637), CIPCQL (SEQ ID NO: 638) и CQRYC (SEQ ID NO: 639). В некоторых аспектах такие одна или более аминокислотных последовательностей представляют собой или содержат: CSQNEYF (приведена в SEQ ID NO: 410) и LLHACIPCQLR (приведена в SEQ ID NO: 428).

[0037] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, внутриклеточная сигнальная область содержит активирующий цитоплазматический сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления активирующий цитоплазматический сигнальный домен способен индуцировать основной сигнал активации в Т-клетке, представляет собой компонент Т-клеточного рецептора (TCR) и/или содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM). В некоторых вариантах осуществления активирующий цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления активирующий цитоплазматический домен является человеческим или получен из человеческого белка. В некоторых вариантах осуществления активирующий цитоплазматический домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628.

[0038] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, нуклеиновая кислота, кодирующая активирующий

цитоплазматический домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 627, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность. В других вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая активирующий цитоплазматический сигнальный домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 652.

[0039] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующую сигнальную область. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы или его сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS, или его сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область является человеческой или получена из человеческого белка. В других вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 626, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 626.

[0040] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, нуклеиновая кислота, кодирующая костимулирующую область, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 625, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая костимулирующую сигнальную область, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 681. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и внутриклеточной сигнальной областью. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD4, CD28 или CD8. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD28. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен является человеческим или получен из человеческого белка. В других вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 624, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 624.

[0041] В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, нуклеиновая кислота, кодирующая трансмембранный

домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 623, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая трансмембранный домен, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 688. В некоторых вариантах осуществления любого из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, закодированный химерный антигенный рецептор содержит, от его N- к C-концу, в следующем порядке: антигенсвязывающий домен, спейсер, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен.

[0042] В некоторых из любых вариантов осуществления полинуклеотид содержит последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 751-756, или последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 751-756, и закодированный рецептор сохраняет функцию связывания с ВСМА и сохраняет сниженную гетерогенность РНК. В некоторых из любых вариантов осуществления полинуклеотид содержит последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 755 и 756, или последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 755 и 756, и закодированный рецептор сохраняет функцию связывания с ВСМА и сохраняет сниженную гетерогенность РНК. В некоторых из любых вариантов осуществления полинуклеотид содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 755, или последовательность, имеющую по меньшей мере или по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с ней, и закодированный рецептор сохраняет функцию связывания с ВСМА и сохраняет сниженную гетерогенность РНК. В некоторых из любых вариантов осуществления полинуклеотид содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 755, и закодированный рецептор сохраняет функцию связывания с ВСМА и сохраняет сниженную гетерогенность РНК.

[0043] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид также кодирует укороченный рецептор.

[0044] Также предложены векторы, содержащие любой из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе. В некоторых из любых вариантов осуществления вектор представляет собой вирусный вектор. В некоторых из любых вариантов осуществления вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор. В некоторых из любых вариантов осуществления вирусный вектор представляет собой лентивирусный вектор.

[0045] В некоторых аспектах предложены химерные антигенные рецепторы, закодированные полинуклеотидом по любому из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный

рецептор содержит: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген созревания В-клеток (BCMA); (b) спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

[0046] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, спейсер получен из иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит последовательность шарнирной области, области CH2 и CH3. В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, одно или более из шарнира, CH2 и CH3 полностью или частично получены из IgG4 или IgG2. В некоторых вариантах осуществления шарнир, CH2 и CH3 получены из IgG4. В некоторых вариантах осуществления одно или более из шарнира, CH2 и CH3 являются химерными и содержат последовательность, полученную из IgG4 и IgG2. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2, область CH2 IgG2/4 и CH3 IgG4.

[0047] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, спейсер представляет собой или содержит (i) последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (ii) функциональный вариант SEQ ID NO: 649, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 649; или (iii) непрерывный фрагмент из (i) или (ii) длиной по меньшей мере 125 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления закодированный спейсер представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649.

[0048] В других аспектах предложены химерные антигенные рецепторы, содержащие (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген созревания В-клеток (BCMA); (b) спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область. В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, антигенсвязывающий домен представляет собой фрагмент антитела, содержащий переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL).

[0049] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849.

[0050] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 или 833-849.

[0051] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849.

[0052] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 или 833-849.

[0053] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295, 507, 532, 593, 596, 604, 611; и/или (б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 594, 597, 605, 612; и (с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595, 606, 613; и/или область VL представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность

область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589, 601, 607 или 614; (b) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590, 602, 608 или 615; и (c) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 или 603.

[0054] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 141, 143, 144, 288, 289, 507, 593, 604, 611; и/или (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4, 5, 6, 145, 147, 148, 290, 291, 372, 513, 594, 605 или 612; и (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 149, 153, 154, 155, 156, 157, 292, 293, 376, 517, 595, 606 или 613; и/или область VL представляет собой или содержит (a) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 174, 176, 177, 178, 302, 303, 380, 381, 382, 589, 601, 607 или 614; (b) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37, 38, 39, 41, 43, 44, 179, 181, 182, 183, 304, 305, 399, 400, 401, 402, 590, 602, 608 или 615; и (c) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47, 48, 49, 51, 52, 55, 56, 185, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 306, 307, 415, 417, 418, 421, 591 или 603. В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 8, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 9, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 11, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 140, 145 и 149, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 149, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145

и 150, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 142, 146 и 151, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 152, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 143, 147 и 153, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 144, 148 и 154, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 156, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 372 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 377, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 373 и 152, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 378, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 374 и 9, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 604, 605 и 606, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 290 и 292, соответственно; или CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно;

[0055] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 8, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 9, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 149,

соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 143, 147 и 153, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 144, 148 и 154, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 156, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 372 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 604, 605 и 606, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 290 и 292, соответственно; или CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно.

[0056] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832. В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609, 617, 772-774 или 814-832. В некоторых вариантах осуществления область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно. В некоторых вариантах осуществления область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617.

[0057] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из: CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26, 37 и 47, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3,



L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 384, 39 и 54, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 385, 180 и 58, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 175, 180 и 188, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 386, 404 и 420, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 387, 405 и 422, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 388, 406 и 423, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 388, 407 и 424, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 389, 408 и 425, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 390, 183 и 193, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 391, 409 и 426, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 392, 40 и 427, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 394, 39 и 429, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 395, 411 и 430, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 396, 412 и 431, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 396, 412 и 58, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 397, 413 и 432, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 398, 414 и 433, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 589, 590 и 591, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 607, 608 и 591, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 302, 304 и 306, соответственно; или CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 303, 305 и 307, соответственно.

[0058] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из: CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26, 37 и 47, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27, 38 и 48, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, 39 и 49, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 39 и 51, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 31, 41 и 52, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 55, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 34, 44 и 56, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 185, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 189, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 176, 181 и 190, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 177, 182 и 191, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 192, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178, 183 и 193, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178, 183 и 194, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 399 и 415, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 380, 400 и 416, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 421, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 381, 401 и 417, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 382, 402 и 418, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 589, 590 и 591, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 607, 608 и 591, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 302, 304 и 306, соответственно; или CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 303, 305 и 307, соответственно.

[0059] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849. В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VL представляет собой или содержит аминокислотную

последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610, 618, 775-777 или 833-849.

[0060] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615, и 603, соответственно.

[0061] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618. В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 122, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 122, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 123, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 123, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 112 и 124, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 112 и 124, соответственно; область VH и область VL содержат аминокислотные











аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно; или область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно.

[0063] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, фрагмент включает scFv. В некоторых вариантах осуществления область VH и область VL соединены гибким линкером. В некоторых вариантах осуществления scFv включает линкер, содержащий аминокислотную последовательность GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 361). В некоторых вариантах осуществления область VH является амино-концевой по отношению к области VL.

[0064] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 или 769-771, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 или 769-771. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 или 585, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 или 585.

[0065] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, область VH является карбокси-концевой по отношению к области VL. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 328 или 586, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 328 или 586.

[0066] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, внутриклеточная сигнальная область содержит активирующий цитоплазматический сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, активирующий цитоплазматический сигнальный домен способен индуцировать основной сигнал активации в Т-клетке, представляет собой компонент Т-клеточного рецептора (TCR) и/или содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив

(ITAM). В некоторых вариантах осуществления активирующий цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления активирующий цитоплазматический домен является человеческим или получен из человеческого белка. В некоторых вариантах осуществления активирующий цитоплазматический домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628.

[0067] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующую сигнальную область. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы или его сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS, или его сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область является человеческой или получена из человеческого белка. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 626, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 626. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и внутриклеточной сигнальной областью. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD4, CD28 или CD8. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD28. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен является человеческим или получен из человеческого белка. В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, трансмембранный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 624, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 624.

[0068] В некоторых вариантах осуществления любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе, закодированный химерный антигенный рецептор содержит, от его N- к C-концу, в следующем порядке: антигенсвязывающий домен, спейсер, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен.

[0069] В некоторых из любых вариантов осуществления химерный антигенный

рецептор закодирован полинуклеотидной последовательностью, содержащей последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 751-756, или последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 751-756. В некоторых из любых вариантов осуществления химерный антигенный рецептор закодирован полинуклеотидной последовательностью, содержащей последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 755 и 756, или последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 755 и 756. В некоторых из любых вариантов осуществления химерный антигенный рецептор закодирован полинуклеотидной последовательностью, содержащей последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 755, или последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с ней. В некоторых из любых вариантов осуществления химерный антигенный рецептор закодирован полинуклеотидной последовательностью, содержащей последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 755.

[0070] В некоторых вариантах осуществления предложены генетически модифицированные клетки, содержащие полинуклеотид по любому из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления любых из генетически модифицированных клеток, описанных в настоящем документе, генетически модифицированная клетка содержит химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе.

[0071] В некоторых вариантах осуществления любых из генетически модифицированных клеток, описанных в настоящем документе, клетка представляет собой иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка представляет собой первичную клетку, полученную от субъекта. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка представляет собой NK-клетку или Т-клетку. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка представляет собой Т-клетку, и Т-клетка представляет собой CD4<sup>+</sup> и/или CD8<sup>+</sup> Т-клетку.

[0072] В некоторых вариантах осуществления любых из генетически модифицированных клеток, описанных в настоящем документе, клетка содержит транскрибированную РНК, кодирующую химерный антигенный рецептор, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит транскрибированную РНК, кодирующую химерный антигенный рецептор, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет сниженную гетерогенность в сравнении с гетерогенностью транскрибированной мРНК в клетке, кодирующей эталонный химерный антигенный рецептор, при этом указанный эталонный химерный антигенный рецептор содержит ту же аминокислотную последовательность, что и химерный антигенный

рецептор, но закодированную другой полинуклеотидной последовательностью, имеющей одно или более нуклеотидных отличий в полинуклеотиде, кодирующем CAR, и/или эталонный химерный антигенный рецептор закодирован полинуклеотидом, содержащим один или более сайтов донора сплайсинга и/или один или более сайтов акцептора сплайсинга в нуклеиновой кислоте, кодирующей спейсер. В некоторых вариантах осуществления гетерогенность РНК снижена на более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50% или более. В некоторых вариантах осуществления клетка, кодирующая эталонный CAR, содержит транскрибированную РНК, кодирующую эталонный CAR, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет гетерогенность РНК более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более. В некоторых вариантах осуществления гомогенность и/или гетерогенность РНК определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или жидкостной хроматографии.

[0073] В некоторых вариантах осуществления любых из генетически модифицированных клеток, описанных в настоящем документе, среди множества генетически модифицированных клеток менее чем или менее чем примерно 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% клеток во множестве содержат химерный антигенный рецептор, характеризующийся тонической сигнализацией и/или антиген-независимой активностью или сигнализацией.

[0074] Также предложены композиции, содержащие любые из генетически модифицированных клеток, описанных в настоящем документе. В некоторых из любых таких вариантов осуществления композиция содержит CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетки, и соотношение CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток составляет от или от примерно 1:3 до 3:1.

[0075] В настоящем документе также предложены композиции, содержащие полинуклеотид по любому из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, или генетически модифицированную клетку по любому из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых из любых таких вариантов осуществления композиция является стерильной.

[0076] В других аспектах предложены способы лечения, включающие введение генетически модифицированных клеток по любому из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, или композиции по любому из вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, субъекту, имеющему заболевание или нарушение. В некоторых из любых вариантов осуществления способ включает введение дозы генетически модифицированных клеток или композиции, содержащей дозу генетически модифицированных клеток.

[0077] Также предложены варианты применения любых генетически

модифицированных клеток или композиций, описанных в настоящем документе, для производства лекарственного препарата для лечения заболевания или нарушения. Также предложены варианты применения любых генетически модифицированных клеток или композиций, описанных в настоящем документе, для лечения заболевания или нарушения. В некоторых из любых таких вариантов осуществления генетически модифицированные клетки или композиции предназначены для использования в схеме лечения, при этом схема лечения включает введение дозы генетически модифицированных клеток или композиции, содержащей дозу генетически модифицированных клеток.

[0078] В некоторых вариантах осуществления любых из способов, описанных в настоящем документе, заболевание или нарушение связано с экспрессией антигена созревания В-клеток (BCMA). В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение, связанное с BCMA, представляет собой заболевание, связанное с В-клетками. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение, связанное с BCMA, представляет собой аутоиммунное заболевание или нарушение. В некоторых вариантах осуществления аутоиммунное заболевание или нарушение представляет собой системную красную волчанку (SLE), волчаночный нефрит, воспалительное заболевание кишечника, ревматоидный артрит, ANCA-ассоциированный васкулит, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ITP), тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (TTP), аутоиммунную тромбоцитопению, болезнь Шагаса, болезнь Грэйва, гранулематоз Вегенера, узелковый полиартериит, синдром Шегрена, обыкновенную пузырчатку, склеродермию, рассеянный склероз, псориаз, IgA-нефропатию, IgM-полиневропатию, васкулит, сахарный диабет, синдром Рейно, антифосфолипидный синдром, болезнь Гудпасчера, болезнь Кавасаки, аутоиммунную гемолитическую анемию, миастению или прогрессирующий гломерулонефрит.

[0079] В некоторых вариантах осуществления любых из способов, описанных в настоящем документе, заболевание или нарушение, связанное с BCMA, представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой BCMA-экспрессирующий рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лимфому, лейкоз или злокачественное новообразование из плазматических клеток. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лимфому, и лимфома представляет собой лимфому Беркитта, неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Ходжкина, макроглобулинемию Вальденстрема, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфому с нерассеченными ядрами, лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), лимфому из клеток маргинальной зоны, лимфому маргинальной зоны селезенки, узелковую моноцитоподобную В-клеточную лимфому, иммунобластную лимфому, крупноклеточную лимфому, диффузную смешанно-клеточную лимфому, легочную В-клеточную лимфангиому, мелколимфоцитарную лимфому, первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, лимфоплазматическую лимфому (LPL) или лимфому из клеток мантийной зоны (MCL). В некоторых вариантах

осуществления рак представляет собой лейкоз, и лейкоз представляет собой хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), плазмноклеточный лейкоз или острый лимфоцитарный лейкоз (ALL). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой злокачественное новообразование из плазматических клеток, и злокачественное новообразование из плазматических клеток представляет собой множественную миелому (ММ) или плазмацитому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой множественную миелому (ММ).

[0080] В некоторых из любых вариантов осуществления доза генетически модифицированных Т-клеток содержит от или от примерно  $1 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $2 \times 10^9$  CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления доза генетически модифицированных Т-клеток содержит от или от примерно  $2,5 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $1,2 \times 10^9$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, от или от примерно  $5,0 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, или от или от примерно  $1,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $3,0 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $2,5 \times 10^7$ , содержит или содержит примерно  $5,0 \times 10^7$ , содержит или содержит примерно  $1,5 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $3,0 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $4,5 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $8,0 \times 10^8$ , или содержит или содержит примерно  $1,2 \times 10^9$  CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $5,0 \times 10^7$ , содержит или содержит примерно  $1,5 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $3,0 \times 10^8$ , или содержит или содержит примерно  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления доза генетически модифицированных Т-клеток содержит сочетание  $CD4^+$  Т-клеток и  $CD8^+$  Т-клеток, при определенном соотношении  $CD4^+$  CAR-экспрессирующих Т-клеток и  $CD8^+$  CAR-экспрессирующих Т-клеток и/или  $CD4^+$  Т-клеток и  $CD8^+$  Т-клеток, составляющем или составляющем примерно 1:1, или составляющем от примерно 1:3 до примерно 3:1.

[0081] В некоторых из любых вариантов осуществления менее чем примерно 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% CAR-экспрессирующих Т-клеток в дозе генетически модифицированных Т-клеток экспрессируют маркер апоптоза, необязательно, аннексин V или активную каспазу 3. В некоторых из любых вариантов осуществления менее чем 5%, 4%, 3%, 2% или 1% CAR-экспрессирующих Т-клеток в дозе генетически модифицированных Т-клеток экспрессируют аннексин V или активную каспазу 3.

[0082] В некоторых из любых вариантов осуществления перед введением клеток субъект получил лимфодеплеционную терапию, включающую введение флударабина в дозе или дозе примерно 20-40 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе или дозе примерно 30 мг/м<sup>2</sup>, ежедневно в течение 2-4 дней, и/или циклофосфамид в

дозе или дозе примерно 200-400 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе или дозе примерно 300 мг/м<sup>2</sup>, ежедневно в течение 2-4 дней.

[0083] В некоторых из любых вариантов осуществления субъект получил лимфодеплеционную терапию, включающую введение флударабина в дозе или дозе примерно 30 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, ежедневно, и циклофосфида в дозе или дозе примерно 300 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, ежедневно, в течение 3 дней.

[0084] В некоторых из любых вариантов осуществления в процессе, или до, введения дозы клеток субъект получил три или более вида терапии, выбранные из: аутологичного трансплантата стволовых клеток (ASCT); иммуномодулирующего средства; ингибитора протеасом и анти-CD38 антитела.

[0085] В некоторых из любых вариантов осуществления иммуномодулирующее средство выбирают из талидомида, леналидомида или помалидомида. В некоторых из любых вариантов осуществления ингибитор протеасом выбирают из бортезомиба, карфилзомиба или иксазомиба. В некоторых из любых вариантов осуществления анти-CD38 антитело представляет собой или содержит даратумумаб.

[0086] В некоторых из любых вариантов осуществления при введении дозы клеток субъект не имел активный, или в анамнезе, плазмоклеточный лейкоз (PCL).

[0087] В некоторых из любых вариантов осуществления при введении субъектам доза или композиция способна приводить к объективному ответу (ОО) у по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов, которым ее вводили. В некоторых из любых вариантов осуществления ОО у субъектов включает строгий полный ответ (сПО), полный ответ (ПО), очень хороший частичный ответ (ОХЧО), частичный ответ (ЧО) и минимальный ответ (МО). В некоторых из любых вариантов осуществления при введении субъектам доза или композиция способна приводить к строгому полному ответу (сПО), полному ответу (ПО), очень хорошему частичному ответу (ОХЧО) или частичному ответу (ЧО) у по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80% или 85% субъектов, которым ее вводили. В некоторых из любых вариантов осуществления при введении субъектам доза или композиция способна приводить к строгому полному ответу (сПО) или полному ответу (ПО) у по меньшей мере 20%, 30%, 40% 50%, 60% или 70% субъектов, которым ее вводили.

[0088] В некоторых из любых вариантов осуществления доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $5,0 \times 10^7$ , содержит или содержит примерно  $1,5 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $3,0 \times 10^8$ , или содержит или содержит примерно  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых из любых вариантов осуществления доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $5,0 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

[0089] В настоящем документе также предложены способы определения гетерогенности транскрибированной нуклеиновой кислоты трансгена, включающие: а) амплификацию транскрибированной нуклеиновой кислоты с использованием по меньшей мере одной пары 5' и 3'-праймеров, при этом по меньшей мере одна пара включает 5'-

праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5'-нетранслируемой области (5' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3'-нетранслируемой области (3' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, с получением одного или более амплифицированных продуктов; и б) обнаружение амплифицированных продуктов, при этом присутствие двух или более амплифицированных продуктов из по меньшей мере одной пары 5' и 3'-праймеров указывает на гетерогенность амплифицированных продуктов.

[0090] В некоторых вариантах осуществления способа обнаруженные отличия на этапе б) представляют собой разные длины амплифицированных транскриптов. В некоторых вариантах осуществления отличия на этапе б) представляют собой отличия в хроматографических профилях амплифицированных транскриптов.

[0091] В некоторых вариантах осуществления отличия в амплифицированных продуктах определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или хроматографии. В некоторых вариантах осуществления 5'-праймер является специфическим для последовательности, транскрибированной с области промотора транскрибированной нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления транскрибированную нуклеиновую кислоту амплифицируют с использованием 3'-праймера, специфического для последовательности в кодирующем аминокислотную последовательность полинуклеотиде и/или 3'-нетранслируемой области на транскрибированной пре-мРНК. В некоторых вариантах осуществления 3'-праймер является специфическим для последовательности полиаденилирования или области энхансера 3'-нетранслируемой области транскрибированной пре-мРНК.

[0092] В некоторых вариантах осуществления этап а) осуществляют путем одной реакции амплификации с использованием одной пары 5' и 3'-праймеров, включающей 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5'-нетранслируемой области (5' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3'-нетранслируемой области (3' UTR). В некоторых вариантах осуществления этап а) осуществляют путем параллельных или последовательных реакций амплификации с использованием первой пары 5' и 3'-праймеров, второй пары 5' и 3'-праймеров и, необязательно, дополнительных пар 5' и 3'-праймеров, при этом: первая пара 5' и 3'-праймеров включает 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5' UTR транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3' UTR транскрибированной нуклеиновой кислоты; вторая пара 5' и 3'-праймеров включает 5'-праймер, последовательность которого комплементарна части транслируемой последовательности транскрипта нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, последовательность

которого комплементарна последовательности нуклеиновой кислоты в 3' UTR транскрипта; и, необязательно, каждая из дополнительных пар 5' и 3'-праймеров включает последовательности, комплементарные последовательностям в транскрибируемой области транскрипта. В некоторых вариантах осуществления в параллельных или последовательных реакциях амплификации амплифицируют перекрывающиеся части транскрипта.

[0093] В некоторых вариантах осуществления амплифицированные продукты имеют предсказанную длину примерно 1,5 кб, 2 кб, 2,5 кб, 3 кб, 3,5 кб, 4 кб, 4,5 кб, 5 кб, 5,5 кб, 6 кб, 7 кб или 8 кб.

[0094] В некоторых из любых вариантов осуществления транскрибируемую нуклеиновую кислоту, которая, как установлено, имеет гетерогенность, идентифицируют как трансген-кандидат для удаления одного или более сайтов сплайсинга. В некоторых из любых вариантов осуществления транскрибируемая нуклеиновая кислота трансгена-кандидата имеет гетерогенность по меньшей мере или по меньшей мере примерно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или более, после экспрессии в клетке.

[0095] Также предложены способы уменьшения гетерогенности экспрессированного трансгенного транскрипта, включающие: а) идентификацию трансгена-кандидата для удаления сайтов сплайсинга с использованием любых методов определения гетерогенности транскрибируемой нуклеиновой кислоты, предложенных в настоящем документе; б) идентификацию одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга; и с) модификацию последовательности нуклеиновой кислоты внутри, или вблизи, одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга, идентифицированных на этапе б), с получением модифицированного полинуклеотида.

[0096] В некоторых из любых таких вариантов осуществления способ также включает d) оценку трансгена в качестве кандидата для удаления сайтов сплайсинга, как на этапе а). В некоторых из любых таких вариантов осуществления способ также включает e) повторение этапов б)-d) до уменьшения гетерогенности транскрипта на этапе d) в сравнении с гетерогенностью транскрипта, определенной на этапе а).

[0097] В некоторых из любых таких вариантов осуществления один или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга имеют показатель примерно или по меньшей мере примерно 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95 или 1,0 события сплайсинга, и/или согласно предсказанию могут быть вовлечены в событие сплайсинга с вероятностью по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100%.

[0098] В некоторых из любых таких вариантов осуществления сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга идентифицируют независимо. В некоторых из любых таких вариантов осуществления сайт(ы) акцептора сплайсинга и/или сайт(ы) донора сплайсинга является/являются каноническим(и), неканоническим(и) или скрытым(и)

сайтом(ми) акцептора сплайсинга и/или сайтом(ми) акцептора сплайсинга.

[0099] В некоторых из любых таких вариантов осуществления трансген представляет собой химерный антигенный рецептор или фрагмент химерного антигенного рецептора. В некоторых из любых таких вариантов осуществления полипептид CAR содержит антигенсвязывающий домен, содержащий фрагмент антитела, необязательно, одноцепочечный фрагмент антитела (scFv), содержащий вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), спейсер (например, спейсерную область, расположенную между лиганд-связывающим доменом и трансмембранным доменом рекомбинантного рецептора), трансмембранную область и внутриклеточную сигнальную область.

[0100] В некоторых из любых таких вариантов осуществления модифицированный полинуклеотид не модифицирован в кодирующей последовательности для антигенсвязывающего домена закодированного полипептида CAR. В некоторых из любых таких вариантов осуществления закодированная аминокислотная последовательность трансгена не изменена после модификации полинуклеотида. В некоторых из любых таких вариантов осуществления РНК, транскрибированная с модифицированного полинуклеотида, имеет гомогенность по меньшей мере или по меньшей мере примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% после экспрессии не модифицированного полинуклеотида в клетке.

[0101] В некоторых из любых таких вариантов осуществления клетка представляет собой человеческую клетку. В некоторых из любых таких вариантов осуществления клетка представляет собой Т-клетку.

[0102] В некоторых из любых таких вариантов осуществления способ является компьютерно-реализуемым способом, и при этом один или более этапов а)-с) выполняют на электронном устройстве, включающем один или более процессоров и блок памяти.

[0103] Также предложены компьютерные системы, включающие процессор и блок памяти, при этом в памяти хранятся инструкции по выполнению с помощью процессора одного или более из этапов способов уменьшения гетерогенности экспрессированного трансгенного транскрипта.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0104] На **ФИГ. 1А** и **1В** представлены результаты анализа для оценки гетерогенности РНК методом электрофореза в агарозном геле. На **ФИГ. 1А** показана гетерогенность РНК нескольких анти-BCMA-CAR, содержащих длинную спейсерную область (ДС) или более короткую спейсерную область CD28. На **ФИГ. 1В** показана гетерогенность РНК трех разных кодирующих последовательностей анти-BCMA CAR, содержащих область длинного спейсера (ДС), до и после оптимизации кодирующей последовательности и удаления сайтов сплайсинга (О/ЭСС).

[0105] На **ФИГ. 2** представлены результаты анализа для оценки уровней экспрессии BCMA-ДС CAR на поверхности трансдуцированных Т-клеток до (не-ЭСС) и после (О/ЭСС) оптимизации и удаления сайтов сплайсинга кодирующей последовательности.

[0106] На **ФИГ. 3** показано сравнение эффективности трансдукции лентивирусных векторов, кодирующих конструкты ВСМА-ДС CAR, и лентивирусных векторов, кодирующих конструкты ВСМА-ДС CAR, которые были кодон-оптимизированы и модифицированы для удаления предсказанных сайтов сплайсинга (О/ЭСС).

[0107] На **ФИГ. 4А** представлены результаты анализа для оценки цитолитической активности экспрессирующих ВСМА-ДС CAR Т-клеток в отношении линейных клеток, экспрессирующих на высоком (K562/ВСМА) или низком (RPMI 8226) уровнях ВСМА при нескольких соотношениях эффектор:клетка-мишень (Э:М). На **ФИГ. 4В** показана цитолитическая активность нескольких экспрессирующих ВСМА-ДС CAR Т-клеток в отношении клеток RPMI-8226 при соотношении Э:М, составляющем 3:1. На **ФИГ. 4С** и **ФИГ. 4D** показана цитолитическая активность экспрессирующих не оптимизированный ВСМА-ДС CAR Т-клеток и экспрессирующих оптимизированный (О/ЭСС) ВСМА-ДС CAR Т-клеток в отношении разных ВСМА-экспрессирующих линий клеток.

[0108] На **ФИГ. 5А** представлены результаты анализа для оценки высвобождения цитокинов  $IFN\gamma$ , IL-2 и  $TNF\alpha$  экспрессирующими ВСМА-ДС CAR Т-клетками в ответ на инкубацию с линейными клетками, экспрессирующими на высоком (K562/ВСМА) или низком (RPMI 8226) уровне ВСМА при нескольких соотношениях эффектор:клетка-мишень (Э:М) (5:1, 2,5:1, 1,25:1 и 0,6:1, обозначены как a, b, c и d, соответственно, на фигуре). На **ФИГ. 5В** показано высвобождение цитокинов  $IFN\gamma$ , IL-2 и  $TNF\alpha$  экспрессирующими не оптимизированный ВСМА-ДС CAR Т-клетками и экспрессирующими оптимизированный (О/ЭСС) ВСМА-ДС CAR Т-клетками в ответ на инкубацию с ВСМА-экспрессирующими клетками K562/ВСМА и RPMI 8226 при разных соотношениях Э:М (3:1, 1,5:1, 0,75:1 и 0,375:1, обозначены как a, b, c и d, соответственно, на фигуре).

[0109] На **ФИГ. 6** представлены результаты анализа для оценки цитолитической активности после инкубации экспрессирующих ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR Т-клеток от двух доноров с ВСМА-экспрессирующими клетками, экспрессирующими ВСМА на разных уровнях.

[0110] На **ФИГ. 7** представлены результаты анализа для оценки высвобождения  $IFN\gamma$  после инкубации экспрессирующих ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR Т-клеток от двух доноров с ВСМА-экспрессирующими клетками, экспрессирующими ВСМА на разных уровнях.

[0111] На **ФИГ. 8** представлены результаты анализа для оценки цитолитической активности экспрессирующих анти-ВСМА CAR Т-клеток, которые экспрессируют CAR, содержащий разные области спейсера, в отношении клеток-мишеней OPM2.

[0112] На **ФИГ. 9А** и **9В** представлены результаты анализа для оценки цитолитической активности экспрессирующих анти-ВСМА CAR Т-клеток после инкубации экспрессирующих анти-ВСМА CAR Т-клеток с клетками-мишенями OPM2 в присутствии растворимого ВСМА-Fc.

[0113] На **ФИГ. 10А** представлены результаты анализа для оценки цитолитической

активности экспрессирующих оптимизированный (О/ЭСС) анти-BCMA CAR T-клеток в присутствии супернатанта от линии клеток H929 множественной миеломы. На **ФИГ. 10B** представлены результаты анализа для оценки цитолитической активности экспрессирующих оптимизированный (О/ЭСС) анти-BCMA CAR T-клеток в присутствии рекомбинантного фактора, активирующего В-клетки (BAFF).

[0114] На **ФИГ. 11A** и **11B** представлены результаты анализа для оценки высвобождения цитокинов IFN $\gamma$ , IL-2 и TNF $\alpha$  после инкубации экспрессирующих анти-BCMA CAR T-клеток с клетками-мишенями OPM2 в присутствии растворимого BCMA-Fc (**ФИГ. 11A**) или супернатанта от линии клеток H929 множественной миеломы (**ФИГ. 11B**) в разных концентрациях (0 нг/мл, 111 нг/мл, 333 нг/мл и 1000 нг/мл, обозначены как a, b, c и d, соответственно, на фигурах).

[0115] На **ФИГ. 12A** представлены результаты анализа для оценки роста опухоли в мышинной модели ксенотрансплантата человеческих клеток OPM2 множественной миеломы после одной внутривенной инъекции CAR T-клеток, экспрессирующих оптимизированный (О/ЭСС) анти-BCMA CAR. На **ФИГ. 12B** представлены результаты анализа для оценки выживаемости в мышинной модели ксенотрансплантата человеческих клеток OPM2 множественной миеломы после одной внутривенной инъекции CAR T-клеток, экспрессирующих оптимизированный (О/ЭСС) анти-BCMA CAR.

[0116] На **ФИГ. 13A** представлены результаты анализа для оценки роста опухоли в мышинной модели (подкожного) ксенотрансплантата клеток RPMI-8226 после одной внутривенной инъекции CAR T-клеток, экспрессирующих оптимизированный (О/ЭСС) анти-BCMA CAR. На **ФИГ. 13B** показана выживаемость в мышинной модели (подкожного) ксенотрансплантата клеток RPMI-8226 после одной внутривенной инъекции CAR T-клеток, экспрессирующих оптимизированный (О/ЭСС) анти-BCMA CAR.

[0117] На **ФИГ. 14A** и **14B** представлены результаты анализа для оценки количества CD4+ (**ФИГ. 14A**) и CD8+ (**ФИГ. 14B**) CAR-положительных T-клеток в крови у мышей с (подкожным) ксенотрансплантатом клеток RPMI-8226, получавших имеющие оптимизированный (О/ЭСС) анти-BCMA CAR T-клетки, полученные от одного донора (донора 2).

[0118] На **ФИГ. 15A** и **15B** представлены результаты анализа для оценки количества CD4+ (**ФИГ. 15A**) и CD8+ (**ФИГ. 15B**) CAR-положительных T-клеток в крови у мышей с (подкожным) ксенотрансплантатом клеток RPMI-8226, получавших имеющие оптимизированный (О/ЭСС) анти-BCMA CAR T-клетки, полученные от одного донора (донора 1).

[0119] На **ФИГ. 16A** представлены результаты анализа для оценки уровня экспрессии tdTomato и укороченного рецептора (суррогатный маркер экспрессии CAR), при определении методом проточной цитометрии, в экспрессирующих BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR клетках, инкубированных в течение 6 часов в 96-луночных планшетах для культивирования клеток, покрытых в течение ночи слитым полипептидом BCMA-Fc (растворимый человеческий BCMA, слитый на его C-конце с Fc-областью IgG) (0,008

мкг/мл, 0,04 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, 1 мкг/мл и 5 мкг/мл). Рекомбинантный полипептид Fc использовали в качестве контроля (Fc контроль).

[0120] На **ФИГ. 16В** представлены результаты анализа для оценки процентного содержания tdTomato+ клеток среди клеток, экспрессирующих укороченный рецептор, для клеток-репортеров, экспрессирующих ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR и ВСМА-25-ДС-О/ЭСС CAR, инкубированных с ВСМА-Fc в десяти (10) концентрациях с 2-кратным серийным разведением. Клетки, экспрессирующие CAR, специфический для другого антигена (анти-CD19 CAR), использовали в качестве контроля.

[0121] На **ФИГ. 17** показано процентное содержание tdTomato+ клеток среди клеток-репортеров, экспрессирующих ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR или ВСМА-55-КС CAR, после совместного культивирования с экспрессирующими человеческий ВСМА клетками-мишенями K562 (ВСМА+ K562) при разных соотношениях Э:М.

[0122] На **ФИГ. 18** показан уровень экспрессии tdTomato и GFP (суррогатный маркер экспрессии CAR), при определении методом проточной цитометрии, в клетках-репортерах, экспрессирующих анти-CD19 CAR, ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR или ВСМА-52-ДС-О/ЭСС CAR, инкубированных без стимуляции антигеном для оценки степени антиген-независимой (тонической) сигнализации в течение 3 дней.

[0123] На **ФИГ. 19А и 19В** показан уровень экспрессии tdTomato и укороченного рецептора (суррогатный маркер экспрессии CAR), при определении методом проточной цитометрии, в клетках-репортерах, экспрессирующих анти-CD19 CAR, ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR или ВСМА-52-ДС-О/ЭСС CAR, содержащие внутриклеточные домены, полученные из 4-1BB или CD28, инкубированных без стимуляции антигеном для оценки степени антиген-независимой (тонической) сигнализации.

[0124] На **ФИГ. 20А** показано процентное содержание tdTomato+ клеток, при определении методом проточной цитометрии, среди клеток-репортеров Nur77-tdTomato, генетически модифицированных для экспрессии ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, специфического для человеческого ВСМА, совместно культивированных с человеческими клетками K562 миелогенного лейкоза, экспрессирующими ВСМА человека (huВСМА), ВСМА мыши (muВСМА) или ВСМА яванского макака (syноВСМА), при соотношении Э:М, составляющем 2:1 или 5:1. На **ФИГ. 20В и 20С** показано процентное содержание (**ФИГ. 20В**) и средняя интенсивность флуоресценции (СИФ; **ФИГ. 20С**) tdTomato+ клеток, при определении методом проточной цитометрии, среди клеток-репортеров, экспрессирующих ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, инкубированных в 96-луночных плоскодонных планшетах, покрытых huВСМА и syноВСМА в возрастающих концентрациях (0, 0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 и 100 мкг/мл).

[0125] На **ФИГ. 21А** показана иллюстративная стратегия амплификации для транскрипта и предсказанный амплифицированный продукт. На **ФИГ. 21В** показаны

иллюстративные амплифицированные продукты, полученные при амплификации транскрипта с известными и неизвестными (скрытыми) сайтами сплайсинга. На **ФИГ. 21С** показана иллюстративная амплификация методом скользящего окна транскрипта с использованием пар «вложенных» праймеров.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0126] Предложенные варианты осуществления относятся к композициям, изделиям, соединениям, способам и вариантам применения, включая те, которые нацелены или направлены на ВСМА и ВСМА-экспрессирующие клетки, а также связанные заболевания. Установлено, что ВСМА экспрессируется, например, гетерогенно экспрессируется, при некоторых заболеваниях и состояниях, таких как злокачественные новообразования, или их ткани и клетки, например, на злокачественных плазматических клетках, например, клетках всех пациентов с рецидивирующей или впервые диагностированной миеломой, например, с небольшой экспрессией на нормальных тканях. В число предложенных вариантов осуществления входят подходы, полезные для лечения таких заболеваний и состояний и/или для нацеливания на клетки таких типов, включая молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие ВСМА-связывающие рецепторы, в том числе химерные антигенные рецепторы (CAR), и закодированные рецепторы, такие как закодированные CAR, а также композиции и изделия, содержащие их. Рецепторы, как правило, могут содержать антитела (включая антигенсвязывающие фрагменты антител, такие как переменные области тяжелой цепи (VH), однодоменные фрагменты антител и одноцепочечные фрагменты, в том числе scFv), специфические для ВСМА. Также предложены клетки, такие как генетически модифицированные, или рекомбинантные, клетки, экспрессирующие такие ВСМА-связывающие рецепторы, например, анти-ВСМА CAR, и/или содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие такие рецепторы, а также композиции и изделия, и терапевтические дозы, содержащие такие клетки. Также предложены способы оценки, оптимизации, получения и применения нуклеотидной последовательности(ей), например, нуклеотидных последовательностей, кодирующих рекомбинантные ВСМА-связывающие рецепторы. Также предложены способы получения и применения (например, в лечении или облегчении характеризующихся экспрессией ВСМА заболеваний и состояний) клеток (например, генетически модифицированных клеток), экспрессирующих или содержащих рекомбинантные ВСМА-связывающие рецепторы и полинуклеотиды, кодирующие рекомбинантные ВСМА-связывающие рецепторы, или композиции, содержащие такие клетки.

[0127] Варианты адоптивной клеточной терапии (включая те, которые связаны с введением клеток, экспрессирующих химерные рецепторы, специфические для интересующего заболевания или нарушения, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR) и/или другие рекомбинантные антигенные рецепторы, а также другие виды терапии с адоптивным переносом иммунных клеток и адоптивным переносом Т-клеток) могут быть эффективны для лечения рака и других заболеваний и нарушений. В некоторых контекстах используемые в настоящее время подходы к адоптивной клеточной терапии не всегда могут

быть полностью удовлетворительными. В некоторых аспектах это относится к способности введенных клеток к узнаванию и связыванию мишени, например, антигена-мишени, такой как ВСМА, к перемещению, локализации и успешному проникновению в соответствующие участки тела субъекта, опухоли и их окружение, к переходу в активированное состояние, размножению, осуществлению различных эффекторных функций, включая цитотоксическое уничтожение и секрецию различных факторов, таких как цитокины, персистенции, в том числе долгосрочной, дифференциации, переходу или вовлечению в перепрограммирование в определенные фенотипические состояния для обеспечения эффективных и надежных ответных реакций после клиренса и повторного воздействия лиганда или антигена-мишени, и к избеганию или уменьшению степени истощения, толерантности, окончательной дифференциации и/или дифференциации в подавленное состояние.

[0128] В некоторых контекстах оптимальный ответ на терапию может зависеть от способности генетически модифицированных рекомбинантных рецепторов, таких как CAR, быть постоянно и надежно экспрессированными на поверхности клеток и/или связывать антиген-мишень. Например, в некоторых случаях гетерогенность транскрибированной РНК с введенного трансгена (например, кодирующего рекомбинантный рецептор) может влиять на экспрессию и/или активность рекомбинантного рецептора, в некоторых случаях при экспрессии в клетке, такой как человеческая Т-клетка, используемая в клеточной терапии. В некоторых контекстах длина и тип спейсера в рекомбинантном рецепторе, таком как CAR, может влиять на экспрессию, активность и/или функцию рецептора.

[0129] Кроме того, в некоторых контекстах конкретные рекомбинантные рецепторы могут проявлять антиген-независимую активность или сигнализацию (также известную как «тоническая сигнализация»), которая может приводить к нежелательным эффектам, например, вследствие повышенной дифференциации и/или истощения Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. В некоторых аспектах такие активности могут ограничивать активность, действие или эффективность Т-клеток. В некоторых случаях в процессе генетической модификации и *ex vivo* размножения клеток для экспрессии рекомбинантного рецептора клетки могут проявлять фенотипы, характерные для истощения, вследствие тонической сигнализации через рекомбинантный рецептор.

[0130] В некоторых контекстах свойства конкретных антигенов-мишеней, которые рекомбинантные рецепторы специфически связывают, узнают или имеют мишенью, могут влиять на активность рецептора. В некоторых контекстах антиген созревания В-клеток (BCMA), как правило, экспрессируется на злокачественных плазматических клетках и является многообещающей терапевтической мишенью для клеточной терапии. В некоторых случаях BCMA может расщепляться гамма-секретазой, с образованием растворимого BCMA (sBCMA), или «отделившейся от мембраны» формы BCMA, что приводит к уменьшению количества BCMA, экспрессируемого на поверхности клеток-мишеней. В некоторых случаях активность BCMA-связывающей молекулы, такой как анти-

ВСМА химерные антигенные рецепторы, может быть блокирована или ингибирована за счет присутствия растворимого ВСМА. Необходимы усовершенствованные стратегии для оптимальных ответов на клеточную терапию, в частности, для получения рекомбинантных рецепторов, которые специфически связывают, узнают или нацелены на ВСМА.

[0131] Предложенные варианты осуществления в некоторых контекстах основаны на том наблюдении, что конкретные спейсеры и оптимизация нуклеотидных последовательностей могут приводить к постоянной и надежной экспрессии рекомбинантного рецептора. Использование предложенных ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов имеет преимущества в сравнении с используемыми в настоящее время подходами к клеточной терапии, в частности, ВСМА-направленной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления установлено, что предложенные ВСМА-связывающие рекомбинантные рецепторы характеризуются сниженной антиген-независимой, тонической сигнализацией и отсутствием ингибирования растворимым ВСМА. В различных аспектах предложенные ВСМА-связывающие рекомбинантные рецепторы, полинуклеотиды, кодирующие такие рецепторы, генетически модифицированные клетки и клеточные композиции проявляют определенные желаемые свойства, позволяющие преодолевать или противодействовать определенным ограничениям, которые могут уменьшать оптимальные ответы на клеточную терапию, например, клеточную терапию генетически модифицированными клетками, экспрессирующими ВСМА-связывающий рекомбинантный рецептор. В некоторых аспектах композиции, содержащие генетически модифицированные клетки, экспрессирующие иллюстративный ВСМА-связывающий рекомбинантный рецептор, предложенный в настоящем документе, как установлено, отличаются постоянным здоровым состоянием генетически модифицированных клеток, что связано с клиническим ответом. В некоторых контекстах предложенные варианты осуществления, включая рекомбинантные рецепторы, полинуклеотиды, кодирующие такие рецепторы, генетически модифицированные клетки и клеточные композиции, могут обеспечивать различные преимущества в сравнении с используемыми в настоящее время видами терапии, направленными на ВСМА, для повышения активности рекомбинантных рецепторов и ответа на ВСМА-направленную клеточную терапию.

## I. ВСМА-СВЯЗЫВАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ И КОДИРУЮЩИЕ ПОЛИНУКЛЕОТИДЫ

[0132] В некоторых аспектах предложены ВСМА-связывающие средства, такие как клеточные поверхностные белки, например, рекомбинантные рецепторы или химерные антигенные рецепторы, которые связывают или узнают молекулы ВСМА, и полинуклеотиды, кодирующие ВСМА-связывающие клеточные поверхностные белки, такие как рекомбинантные рецепторы (например, CAR), а также клетки, экспрессирующие такие рецепторы. ВСМА-связывающие клеточные поверхностные белки, как правило, содержат антитела (например, антигенсвязывающие фрагменты антител) и/или другие связывающие пептиды, которые специфически узнают, например, специфически

связывают, ВСМА, такие как белки ВСМА, например, человеческий белок ВСМА. В некоторых аспектах средства связывают внеклеточный фрагмент ВСМА.

[0133] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды являются оптимизированными, или имеют определенные признаки, предназначенные для оптимизации, например, для использования кодонов, для уменьшения гетерогенности РНК и/или для модификации, например, повышения, или придания большей воспроизводимости среди лотов клеточного продукта, экспрессии, такой как поверхностная экспрессия, закодированного рецептора. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды, кодирующие ВСМА-связывающие клеточные поверхностные белки, модифицированы в сравнении с эталонным полинуклеотидом, например, для удаления критических или скрытых сайтов сплайсинга, для уменьшения гетерогенности РНК. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды, кодирующие ВСМА-связывающие клеточные поверхностные белки, кодон-оптимизированы, например, для экспрессии в клетках млекопитающего, например, человека, например, в человеческих Т-клетках. В некоторых аспектах модифицированные полинуклеотиды приводят к усовершенствованному, например, повышенному или более однородному, или более постоянному, уровню экспрессии, например, поверхностной экспрессии, при экспрессии в клетке. Такие полинуклеотиды могут быть использованы в конструктах для получения генетически модифицированных клеток, экспрессирующих закодированный ВСМА-связывающий клеточный поверхностный белок. Таким образом, также предложены клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы, закодированные полинуклеотидами, предложенными в настоящем документе, и варианты их применения в адоптивной клеточной терапии, например, в лечении заболеваний и нарушений, связанных с экспрессией ВСМА.

[0134] В число предложенных полинуклеотидов входят те, которые кодируют рекомбинантные рецепторы, например, антигенные рецепторы, которые специфически узнают, например, специфически связывают, ВСМА. В некоторых аспектах также предложены закодированные рецепторы, например, те, которые содержат ВСМА-связывающие полипептиды, а также их композиции и изделия, и варианты их применения.

[0135] В число ВСМА-связывающих полипептидов входят антитела, такие как одноцепочечные антитела (например, антигенсвязывающие фрагменты антител), или их части. В некоторых примерах рекомбинантные рецепторы представляют собой химерные антигенные рецепторы, такие как те, которые содержат анти-ВСМА антитела или их антигенсвязывающие фрагменты. В любом из вариантов осуществления антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, в предложенном CAR, специфически узнающее антиген, например, ВСМА, специфически связывает антиген. Предложенные полинуклеотиды могут быть включены в конструкты, такие как конструкты дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) или РНК, например, те, которые могут быть введены в клетки для экспрессии закодированных рекомбинантных ВСМА-связывающих рецепторов.

[0136] В некоторых случаях полинуклеотид, кодирующий ВСМА-связывающий

рецептор, содержит сигнальную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, в некоторых случаях закодированную выше по ходу транскрипции от нуклеотидных последовательностей, кодирующих ВСМА-связывающий рецептор, или связанную на 5'-конце нуклеотидных последовательностей, кодирующих антигенсвязывающий домен. В некоторых случаях полинуклеотид, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие ВСМА-связывающий рецептор, например, химерный антигенный рецептор (CAR), содержит сигнальную последовательность, кодирующую сигнальный пептид. В некоторых аспектах сигнальная последовательность может кодировать сигнальный пептид, полученный из природного полипептида. В других аспектах сигнальная последовательность может кодировать гетерологичный или неприродный сигнальный пептид. В некоторых аспектах неограничивающий иллюстративный сигнальный пептид включает сигнальный пептид каппа-цепи IgG, приведенный в SEQ ID NO: 620, или закодированный нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 619 или 682-685; альфа-цепи GMCSFR, приведенный в SEQ ID NO: 851 и закодированный нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 850; сигнальный пептид CD8-альфа, приведенный в SEQ ID NO: 852; или сигнальный пептид CD33, приведенный в SEQ ID NO: 853. В некоторых случаях полинуклеотид, кодирующий ВСМА-связывающий рецептор, может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую дополнительные молекулы, такие как суррогатный маркер или другие маркеры, или может содержать дополнительные компоненты, такие как промоторы, регуляторные элементы и/или мультицистронные элементы. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая ВСМА-связывающий рецептор, может быть функционально связана с любым из дополнительных компонентов.

#### **А. Компоненты закодированных рекомбинантных ВСМА-связывающих рецепторов**

[0137] Предложенные ВСМА-связывающие рецепторы, как правило, содержат внеклеточную связывающую молекулу и внутриклеточный сигнальный домен. В число предложенных связывающих молекул входят полипептиды, включающие антитела, в том числе одноцепочечные клеточные поверхностные белки, например, рекомбинантные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы, содержащие такие антитела.

[0138] В число предложенных связывающих молекул (например, ВСМА-связывающих молекул) входят одноцепочечные клеточные поверхностные белки, такие как рекомбинантные рецепторы (например, антигенные рецепторы), которые содержат одно из предложенных антител, или его фрагмент (например, ВСМА-связывающий фрагмент). Рекомбинантные рецепторы включают антигенные рецепторы, которые специфически связывают или специфически узнают ВСМА, например, антигенные рецепторы, содержащие предложенные анти-ВСМА антитела, например, антигенсвязывающие фрагменты. В число антигенных рецепторов входят функциональные не-TCR антигенные рецепторы, такие как химерные антигенные рецепторы (CAR). Также предложены клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы, и варианты их применения в адоптивной

клеточной терапии, например, в лечении заболеваний и нарушений, связанных с экспрессией ВСМА.

[0139] Иллюстративные антигенные рецепторы, включая CAR, и способы генетической модификации и введения таких антигенных рецепторов в клетки, включают те, которые описаны, например, в публикациях международных патентных заявок №№ WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013166321, WO2013071154, WO2013123061, публикациях патентных заявок США №№ US2002131960, US2013287748, US20130149337, патентах США №№ 6451995, 7446190, 8252592, 8339645, 8398282, 7446179, 6410319, 7070995, 7265209, 7354762, 7446191, 8324353 и 8479118, и Европейской патентной заявке № EP2537416, и/или те, которые описаны в публикациях Sadelain *et al.*, *Cancer Discov.* 2013 April; 3(4): 388-398; Davila *et al.* (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338; Turtle *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, 2012 October; 24(5): 633-39; Wu *et al.*, *Cancer*, 2012 March 18(2): 160-75. В некоторых аспектах антигенные рецепторы включают CAR, описанный в патенте США № 7446190, и те, которые описаны в публикации международной патентной заявки № WO2014055668. Иллюстративные CAR включают CAR, раскрытые в любой из вышеупомянутых публикаций, например, WO2014031687, US 8339645, US 7446179, US 2013/0149337, US 7446190 и US 8389282, и в которых антигенсвязывающий фрагмент, например, scFv, заменен антителом, или его антигенсвязывающим фрагментом, предложенным в настоящем документе.

[0140] В некоторых вариантах осуществления предложенный CAR имеет аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 757-762, или имеющую по меньшей мере или по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 757-762. В некоторых вариантах осуществления предложенный CAR закодирован полинуклеотидом, таким как полинуклеотид с нуклеотидной последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 751-756, или последовательностью, имеющей по меньшей мере или по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с нуклеотидной последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 751-756.

[0141] В некоторых вариантах осуществления предложенный CAR закодирован полинуклеотидом, таким как полинуклеотид с нуклеотидной последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 755 и 756, или последовательностью, имеющей по меньшей мере или по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с нуклеотидной последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 755 и 756.

[0142] В некоторых вариантах осуществления предложенный CAR закодирован полинуклеотидом, таким как полинуклеотид с нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 755, или последовательностью, имеющей по меньшей мере или по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%

идентичность последовательности с ней. В некоторых вариантах осуществления предложенный CAR закодирован полинуклеотидом, таким как полинуклеотид с нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 755.

[0143] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит (a) нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 648, 330-352, 647, 716 или 718; (b) нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 648, 330-352, 647, 716 или 718; или (c) вырожденную последовательность из (a) или (b).

### *1. Антигенсвязывающий домен*

[0144] В число химерных рецепторов входят химерные антигенные рецепторы (CAR). Химерные рецепторы, такие как CAR, как правило, содержат внеклеточный антигенсвязывающий домен, которые включает, представляет собой или состоит из, или содержит одно из предложенных анти-BCMA антител. Таким образом, химерные рецепторы, например, CAR, как правило, содержат в их внеклеточных фрагментах одну или более BCMA-связывающих молекул, например, один или более антигенсвязывающих фрагментов, доменов или частей, или одну или более переменных областей антитела, и/или молекул антитела, таких как те, которые описаны в настоящем документе.

[0145] В настоящем документе термин «антитело» используется в самом широком смысле и охватывает поликлональные и моноклональные антитела, включая интактные антитела и функциональные (антигенсвязывающие) фрагменты антител, в том числе антигенсвязывающие фрагменты (Fab), фрагменты F(ab')<sub>2</sub>, фрагменты Fab', фрагменты Fv, рекомбинантные фрагменты IgG (rIgG), переменные области тяжелой цепи (VH), способные специфически связывать антиген, одноцепочечные фрагменты антител, в том числе одноцепочечные переменные фрагменты (scFv), и однодоменные фрагменты антител (например, одАт, одFv, нанотело). Термин охватывает генетически модифицированные и/или иным образом модифицированные формы иммуноглобулинов, такие как интратела, пептитела, химерные антитела, полностью человеческие антитела, гуманизированные антитела и гетероконъюгатные антитела, мультиспецифические, например, биспецифические или триспецифические, антитела, диатела, триатела и тетратела, тандемные ди-scFv, тандемные три-scFv. Если нет иных указаний, термин «антитело» следует понимать, как охватывающий функциональные фрагменты антител, в настоящем документе также называемые «антигенсвязывающими фрагментами». Термин также охватывает интактные или полноразмерные антитела, включая антитела любого класса или подкласса, в том числе IgG и его подклассов, IgM, IgE, IgA и IgD.

[0146] Термины «определяющая комплементарность область» и «CDR», синонимами которых являются термины «гиперварибельная область» или «HVR», известны в данной области и означают состоящие из несмежных участков последовательности аминокислот в переменных областях антитела, которые придают антигенную специфичность и/или аффинность связывания. Как правило, существуют три

CDR в каждой вариабельной области тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) и три CDR в каждой вариабельной области легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). Термины «каркасные области» и «FR», как известно в данной области, означают не-CDR части вариабельных областей тяжелых и легких цепей. Как правило, существуют четыре FR в каждой полноразмерной вариабельной области тяжелой цепи (FR-H1, FR-H2, FR-H3 и FR-H4) и четыре FR в каждой полноразмерной вариабельной области легкой цепи (FR-L1, FR-L2, FR-L3 и FR-L4).

[0147] Точные границы аминокислотной последовательности конкретной CDR или FR можно с легкостью определять с использованием любой из ряда хорошо известных систем, включая те, которые описаны в публикации Kabat *et al.* (1991), «Sequences of Proteins of Immunological Interest» 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (система нумерации «Kabat»); Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948 (система нумерации «Chothia»); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), «Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography» J. Mol. Biol. 262, 732-745 («контактная» система нумерации); Lefranc MP *et al.*, «IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains» Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77 (система нумерации «IMGT»); Honegger A and Plückthun A, «Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool» J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70, (система нумерации «Aho»); и Martin *et al.*, «Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm» PNAS, 1989, 86(23):9268-9272 (система нумерации «AbM»).

[0148] Границы конкретной CDR или FR могут варьироваться в зависимости от системы, используемой для определения. Например, система Kabat основана на структурных выравниваниях, в то время как система Chothia основана на структурной информации. Нумерация по системам как Kabat, так и Chothia, основана на наиболее распространенных длинах последовательностей областей антител, со вставками, обозначенными буквами, например, «30a», и делециями, имеющими место в некоторых антителах. В двух системах определенные вставки и делеции («indel») размещены в разных положениях, что приводит к различающимся нумерациям. Контактная система основана на анализе кристаллических структур комплексов и во многих отношениях аналогична системе нумерации Chothia. Система AbM представляет собой компромисс между определениями Kabat и Chothia, эта система используется в программе моделирования антител AbM (Oxford Molecular).

[0149] В Таблице 1, ниже, приведены иллюстративные границы CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 в соответствии с системами Kabat, Chothia, AbM и контактной системой, соответственно. Для CDR-H1 нумерация остатков приведена с использованием систем нумерации как Kabat, так и Chothia. FR расположены между CDR, например, FR-L1 расположен перед CDR-L1, FR-L2 расположен между CDR-L1 и CDR-L2, FR-L3 расположен между CDR-L2 и CDR-L3, и так далее. Следует отметить, что, поскольку в представленной системе нумерации Kabat вставки размещены на H35A и H35B, конец

петли CDR-H1 по Chothia, при нумерации с использованием нумерации Kabat, варьируется между H32 и H34, в зависимости от длины петли.

<b>Таблица 1. Границы CDR в соответствии с разными системами нумерации</b>				
<b>CDR</b>	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>	<b>AbM</b>	<b>Контактная</b>
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (нумерация Kabat <sup>1</sup> )	H31--H35B	H26--H32,34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (нумерация Chothia <sup>2</sup> )	H31--H35	H26--H32	H26--H35	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H50--H58	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

1 - Kabat *et al.* (1991), «Sequences of Proteins of Immunological Interest» 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948

[0150] Таким образом, если не указано иначе, следует понимать, что «CDR» или «определяющая комплементарность область», или индивидуально указанная CDR (например, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3), конкретного антитела или его области, такой как его варибельная область, охватывает (или конкретную) определяющую комплементарность область, определенную в соответствии с любой из вышеуказанных систем, или другими известными системами. Например, если указано, что конкретная CDR (например, CDR-H3) содержит аминокислотную последовательность соответствующей CDR в конкретной аминокислотной последовательности области V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub>, понятно, что такая CDR имеет последовательность соответствующей CDR (например, CDR-H3) в варибельной области, определенную в соответствии с любой из вышеуказанных систем, или другими известными системами. В некоторых вариантах осуществления указаны конкретные последовательности CDR. Иллюстративные последовательности CDR предложенных антител описаны с использованием разных систем нумерации, хотя понятно, что предложенное антитело может содержать CDR, описанную в соответствии с любой из вышеуказанных систем, или другими системами нумерации, известными квалифицированному специалисту.

[0151] Аналогично, если не указано иначе, следует понимать, что FR, или индивидуально указанная FR (например, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4), конкретного антитела или его области, такой как его варибельная область, охватывает (или конкретную) каркасную область, определенную в соответствии с любой из известных систем. В некоторых случаях система определения конкретной CDR, FR, или областей FR или областей CDR, указана, например, CDR по определению Kabat, Chothia, AbM или

контактной системы, или в соответствии с другими известными системами. В других случаях приведена конкретная аминокислотная последовательность CDR или FR.

[0152] Термин «вариабельная область», или «вариабельный домен», означает домен тяжелой или легкой цепи антитела, который участвует в связывании антитела с антигеном. Вариабельные области тяжелой цепи и легкой цепи (VH и VL, соответственно) естественного антитела, как правило, имеют сходные структуры, при этом каждый домен содержит четыре консервативные каркасные области (FR) и три области CDR. (Смотри, например, Kindt *et al.* Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman и Co., page 91 (2007). Отдельного домена VH или VL может быть достаточно для придания специфичности связывания антигена. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с использованием домена VH или VL из антитела, связывающего антиген, для скрининга библиотеки комплементарных доменов VL или VH, соответственно. Смотри, например, Portolano *et al.*, J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson *et al.*, Nature 352:624-628 (1991).

[0153] В число антител, включенных в предложенные CAR, входят фрагменты антител. Термин «фрагмент антитела», или «антигенсвязывающий фрагмент», означает молекулу, отличную от интактного антитела, которая содержит часть интактного антитела, связывающую антиген, который связывает интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничиваются ими, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>; диатела; линейные антитела; вариабельные области тяжелой цепи (VH), одноцепочечные молекулы антител, такие как scFv, и однодоменные антитела, содержащие только область VH; а также мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен в предложенном CAR представляет собой или включает фрагмент антитела, содержащий вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL). В конкретных вариантах осуществления антитела представляют собой одноцепочечные фрагменты антител, содержащие вариабельную область тяжелой цепи (VH) и/или вариабельную область легкой цепи (VL), такие как scFv.

[0154] Однодоменные антитела (одАт) представляют собой фрагменты антител, содержащие всю или часть вариабельной области тяжелой цепи, или всю или часть вариабельной области легкой цепи антитела. В конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой человеческое однодоменное антитело.

[0155] Фрагменты антитела можно получать разными методами, включая, но без ограничения, протеолитическое расщепление интактного антитела, а также продуцирование рекомбинантными клетками-хозяевами. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой полученные рекомбинантными методами фрагменты, такие как фрагменты, содержащие конструкции, не встречающиеся в природе, например, конструкции с двумя или более областями или цепями антител, связанными синтетическими линкерами, например, пептидными линкерами, и/или конструкции, которые не могут быть получены ферментативным расщеплением естественного

интактного антитела. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антитела представляют собой scFv.

[0156] «Гуманизированное» антитело представляет собой антитело, в котором все, или практически все, аминокислотные остатки CDR получены из не принадлежащих человеку CDR, и все, или практически все, аминокислотные остатки FR получены из FR человека. Гуманизированное антитело, необязательно, может содержать по меньшей мере часть константной области антитела, полученную из человеческого антитела. «Гуманизированная форма» не принадлежащего человеку антитела означает вариант не принадлежащего человеку антитела, которое было подвергнуто гуманизации, как правило, для уменьшения иммуногенности у человека, при этом с сохранением специфичности и аффинности исходного не принадлежащего человеку антитела. В некоторых вариантах осуществления некоторые остатки FR в гуманизированном антителе заменены соответствующими остатками из не принадлежащего человеку антитела (например, антитела, из которого происходят остатки CDR), например, для восстановления или повышения специфичности или аффинности антитела.

[0157] В число анти-BCMA антител, включенных в предложенные CAR, входят человеческие антитела. «Человеческое антитело» представляет собой антитело с аминокислотной последовательностью, соответствующей последовательности антитела, продуцируемого в организме человека или в человеческой клетке, или в отличном от человека источнике, в котором используются репертуары человеческих антител или другие кодирующие человеческие антитела последовательности, включая библиотеки человеческих антител. Термин не относится к гуманизированным формам не принадлежащих человеку антител, содержащим не принадлежащие человеку антигенсвязывающие области, например, те, в которых все или практически все CDR не принадлежат человеку. Термин охватывает антигенсвязывающие фрагменты человеческих антител.

[0158] Человеческие антитела можно получать путем введения иммуногена трансгенному животному, которое было модифицировано для продуцирования интактных человеческих антител, или интактных антител с человеческими вариабельными областями, в ответ на стимуляцию антигеном. Такие животные, как правило, имеют все, или часть локусов человеческих иммуноглобулинов, которые заменяют эндогенные локусы иммуноглобулинов, или которые присутствуют вне хромосом или интегрированы случайным образом в хромосомы животных. У таких трансгенных животных эндогенные локусы иммуноглобулинов, как правило, были инактивированы. Человеческие антитела также могут быть получены из библиотек человеческих антител, включая библиотеки фагового дисплея и бесклеточные библиотеки, содержащие кодирующие антитела последовательности, полученные из репертуара человеческих антител.

[0159] В число антител, включенных в предложенные CAR, входят антитела, представляющие собой моноклональные антитела, в том числе, фрагменты моноклональных антител. Используемый в настоящем документе термин «моноклональное

антитело» означает антитело, полученное из, или в, популяции практически однородных антител, то есть, отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных вариантов, имеющих природные мутации, или возникающих в процессе производства препарата моноклонального антитела, такие варианты, как правило, присутствуют в незначительных количествах. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые, как правило, включают разные антитела, направленные против разных эпитопов, каждое моноклональное антитело в препарате моноклональных антител направлено против одного эпитопа на антигене. Термин не следует понимать, как подразумевающий получение антител каким-либо конкретным методом. Моноклональное антитело может быть получено разными методами, включая, но без ограничения, получение из гибридомы, методы рекомбинантных ДНК, библиотеки фагового дисплея и другие методы дисплея антител.

[0160] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит ВСМА-связывающий фрагмент или фрагменты молекулы антитела, такие как переменная область тяжелой цепи (VH) и/или переменная область легкой цепи (VL) антитела, например, scFv фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления предложенные ВСМА-связывающие CAR содержат антитело, такое как анти-ВСМА антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, которое придает ВСМА-связывающие свойства предложенным CAR. В некоторых вариантах осуществления антитело, или антигенсвязывающий домен, может представлять собой любое анти-ВСМА антитело, описанное или полученное из любого описанного анти-ВСМА антитела. Смотри, например, Carpenter *et al.*, Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060, WO2016090320, WO2016090327, WO2010104949 и WO2017173256. Любые из таких анти-ВСМА антител или антигенсвязывающих фрагментов можно использовать в предложенных CAR. В некоторых вариантах осуществления анти-ВСМА CAR содержит антигенсвязывающий домен, представляющий собой scFv, который содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL), полученные из антитела, описанного в WO 2016090320 или WO2016090327.

[0161] В некоторых вариантах осуществления антитело, например, анти-ВСМА антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, содержит описанную последовательность переменной области тяжелой и/или легкой цепи (VH или VL), или ее достаточный антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления анти-ВСМА антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит последовательность области VH, или ее достаточный антигенсвязывающий фрагмент, которая содержит описанные CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3. В некоторых вариантах осуществления анти-ВСМА антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит последовательность области VL, или ее достаточный антигенсвязывающий фрагмент, которая содержит описанные CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3. В некоторых вариантах осуществления анти-ВСМА антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит последовательность области VH, которая содержит описанные CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3, и содержит последовательность области VL, которая содержит описанные CDR-L1, CDR-L2 и/или

CDR-L3. В число антител также входят антитела, имеющие последовательности, по меньшей мере на или на примерно 90%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98% или примерно 99% идентичные такой последовательности.

[0162] В некоторых вариантах осуществления антитело, например, его антигенсвязывающий фрагмент, в предложенном CAR содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617 и 772-774, и 814-832, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832, или содержит CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3, присутствующие в такой последовательности VH. В некоторых вариантах осуществления антитело, или фрагмент антитела, в предложенном CAR имеет область VH любого из антител, или связывающих фрагментов антител, описанных в WO 2016090327, WO 2016090320 или WO 2017173256.

[0163] В некоторых вариантах осуществления область VH анти-BCMA антитела содержит определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$  (SEQ ID NO: 355), где  $X_1$  представляет собой A, D, E, G, L, V или W;  $X_2$  представляет собой A, D, G, L, P, Q или S;  $X_3$  представляет собой A, D, G, L или Y;  $X_4$  представляет собой D, G, P, R, S, V, Y или отсутствует;  $X_5$  представляет собой D, I, P, S, T, Y или отсутствует;  $X_6$  представляет собой A, G, I, S, T, V, Y или отсутствует;  $X_7$  представляет собой A, D, E, F, L, P, S, Y или отсутствует;  $X_8$  представляет собой P, Q, T, Y или отсутствует;  $X_9$  представляет собой D, G, R, Y или отсутствует;  $X_{10}$  представляет собой A, F, Y или отсутствует;  $X_{11}$  представляет собой D, F или отсутствует;  $X_{12}$  представляет собой F или отсутствует;  $X_{13}$  представляет собой D, T или Y; и  $X_{14}$  представляет собой I, L, N, V или Y. В некоторых таких вариантах осуществления в указанном CDR-H3  $X_1$  представляет собой V;  $X_2$  представляет собой D;  $X_3$  представляет собой G;  $X_4$  представляет собой D;  $X_5$  представляет собой Y;  $X_6$  представляет собой V;  $X_7$  представляет собой D;  $X_8$  отсутствует;  $X_9$  отсутствует;  $X_{10}$  отсутствует;  $X_{11}$  отсутствует;  $X_{12}$  отсутствует;  $X_{13}$  представляет собой D и  $X_{14}$  представляет собой Y.

[0164] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595 в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 и 595 в соответствии с нумерацией Chothia или нумерацией AbM. В некоторых

вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 606 и 613. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 517, 595, 606 или 613. В любом из таких примеров антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, может содержать последовательность области VH, выбранную из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832, в которой соответствующая последовательность CDR-H3, содержащаяся в ней (например, соответствующая аминокислотным остаткам H95-H102 по нумерации Kabat) заменена последовательностью CDR-H3, выбранной из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 и 595 в соответствии с нумерацией Kabat, любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 и 595 в соответствии с нумерацией Chothia или нумерацией AbM, или любой из SEQ ID NO: 606 и 613.

[0165] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H3, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832.

[0166] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность  $X_1X_2X_3MX_4$  (SEQ ID NO: 353), где  $X_1$  представляет собой D или S;  $X_2$  представляет собой Y или S;  $X_3$  представляет собой A, G, W или Y; и  $X_4$  представляет собой H, Q или S. В некоторых вариантах осуществления в указанной CDR-H1  $X_1$  представляет собой D;  $X_2$  представляет собой Y;  $X_3$  представляет собой Y; и  $X_4$  представляет собой S.

[0167] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 507 и 593 в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 12-15, 158-160, 294, 295, 532 и 596 в соответствии с нумерацией Chothia. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 19-22, 165-169, 298, 299, 509, 577 и 598 в соответствии с нумерацией AbM. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 604 и 611. В некоторых вариантах

осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 507, 532, 577, 593, 596, 598, 604 и 611. В любом из таких примеров антитела, или его антигенсвязывающий фрагмент, может содержать последовательность области VH, выбранную из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832, в которой соответствующая последовательность CDR-H1, содержащаяся в ней (например, соответствующая аминокислотным остаткам H31-H35 по нумерации Kabat), заменена последовательностью CDR-H1, выбранной из любой из SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 507 и 593 в соответствии с нумерацией Kabat, любой из SEQ ID NO: 12-15, 158-160, 294, 295, 532 и 596 в соответствии с нумерацией Chothia, любой из SEQ ID NO: 19-22, 165-169, 509, 298, 299, 509, 577 и 598 в соответствии с нумерацией AbM, или любой из SEQ ID NO: 604 и 611.

[0168] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832.

[0169] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность  $X_1IX_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}YX_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$  (SEQ ID NO: 354), где  $X_1$  представляет собой F, G, H, V, W или Y;  $X_2$  представляет собой N, R, S или V;  $X_3$  представляет собой P, Q, S, V, W или Y;  $X_4$  представляет собой K или отсутствует;  $X_5$  представляет собой A или отсутствует;  $X_6$  представляет собой D, G, N, S или Y;  $X_7$  представляет собой G или S;  $X_8$  представляет собой G или S;  $X_9$  представляет собой E, G, N, T или S;  $X_{10}$  представляет собой I, K или T;  $X_{11}$  представляет собой E, G, N или Y;  $X_{12}$  представляет собой A или V;  $X_{13}$  представляет собой A, D или Q;  $X_{14}$  представляет собой K или S;  $X_{15}$  представляет собой F или V;  $X_{16}$  представляет собой K или Q; и  $X_{17}$  представляет собой E или G. В некоторых вариантах осуществления в указанной CDR-H2  $X_1$  представляет собой Y;  $X_2$  представляет собой S,  $X_3$  представляет собой S;  $X_4$  отсутствует;  $X_5$  отсутствует;  $X_6$  представляет собой S;  $X_7$  представляет собой G;  $X_8$  представляет собой S;  $X_9$  представляет собой T;  $X_{10}$  представляет собой I;  $X_{11}$  представляет собой Y;  $X_{12}$  представляет собой A;  $X_{13}$  представляет собой D;  $X_{14}$  представляет собой S;  $X_{15}$  представляет собой V;  $X_{16}$  представляет собой K; и  $X_{17}$  представляет собой G.

[0170] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 372-374, 513 и 594 в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 16-18, 161-164, 296, 297, 514-516, 551, 597 в соответствии с нумерацией Chothia. В

некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 23-25, 170-173, 300, 301, 510-512, 587 и 599 в соответствии с нумерацией AbM. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 605 и 612. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H2, имеющую любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 513, 551, 587, 594, 597, 599, 605 или 612. В любом из таких примеров антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, может содержать последовательность области VH, выбранную из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832, в которой соответствующая последовательность CDR-H2, содержащаяся в ней (например, соответствующая аминокислотным остаткам H50-H65 по нумерации Kabat), заменена последовательностью CDR-H2, выбранной из любой из SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 372-374, 513 и 594 в соответствии с нумерацией Kabat, любой из SEQ ID NO: 16-18, 161-164, 296, 297, 514-516, 551, 597 в соответствии с нумерацией Chothia, любой из SEQ ID NO: 23-25, 170-173, 300, 301, 510-512, 587 и 599 в соответствии с нумерацией AbM, или любой из SEQ ID NO: 605 или 612.

[0171] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H2, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832.

[0172] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H1, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 507 и 593 в соответствии с нумерацией Kabat; CDR-H2, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 372-374, 513 и 594 в соответствии с нумерацией Kabat; и CDR-H3, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 и 595 в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H1, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 12-15, 158-160, 294, 295, 532 и 596 в соответствии с нумерацией Chothia; CDR-H2, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 16-18, 161-164, 296, 297, 514-516, 551, 597 в соответствии с нумерацией Chothia; и CDR-H3, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 и 595 в соответствии с нумерацией Chothia. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент,

содержит CDR-H1, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 19-22, 165-169, 509, 298, 299, 509, 577 и 598 в соответствии с нумерацией AbM; CDR-H2, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 23-25, 170-173, 300, 201, 510-512, 587 и 599 в соответствии с нумерацией AbM; и CDR-H3, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595, 606 и 613 в соответствии с нумерацией AbM. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H1, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 604 и 611; CDR-H2, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 605 и 612; и CDR-H3, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 606 и 613.

[0173] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3 в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3 в соответствии с нумерацией Chothia. В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3 в соответствии с нумерацией AbM.

[0174] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из группы, состоящей из: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 8, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 9, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 11, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 140, 145 и 149, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 149, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 150, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 142, 146 и 151, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 152, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 143, 147 и 153, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 144, 148 и 154, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 156, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 372 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 376, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 377, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 373 и 152, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 378, соответственно; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 374 и 9; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 290 и 292; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 289, 291, 293; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517; CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, в соответствии с нумерацией Kabat.

[0175] Например, антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в настоящем документе, содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности, выбранные из: SEQ ID NO: 1, 4 и 7; SEQ ID NO: 2, 5 и 8; SEQ ID NO: 2, 5 и 9; SEQ ID NO: 2, 5 и 10; SEQ ID NO: 3, 6 и 11; SEQ ID NO: 140, 145 и 149; SEQ ID NO: 141, 145 и 149; SEQ ID NO: 141, 145 и 150; SEQ ID NO: 142, 146 и 151; SEQ ID NO: 2, 5 и 152; SEQ ID NO: 143, 147 и 153; SEQ ID NO: 144, 148 и 154; SEQ ID NO: 3, 6 и 155; SEQ ID NO: 2, 5 и 156; SEQ ID NO: 2, 5 и 157; SEQ ID NO: 2, 6 и 376; SEQ ID NO: 3, 372 и 376; SEQ ID NO: 3, 6 и 376; SEQ ID NO: 3, 6 и 377; SEQ ID NO: 2, 373 и 152; SEQ ID NO: 2, 5 и 378; SEQ ID NO: 2, 374 и 9, SEQ ID NO: 288, 290 и 292; SEQ ID NO: 289, 291, 293; SEQ ID NO: 507, 513 и 517; и SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, в соответствии с нумерацией Kabat.

[0176] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной

последовательности области VH с SEQ ID NO: 609 или SEQ ID NO: 617. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VH, которая содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно; SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно; или SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно.

[0177] В некоторых вариантах осуществления антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, область VH содержит любые из описанных CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 и содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, имеющие по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности, соответственно, с FR1, FR2, FR3 и/или FR4, содержащимися в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832. Например, анти-BCMA антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, может содержать CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, соответственно, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832, и каркасную область (например, FR1, FR2, FR3 и/или FR4), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичность последовательности с каркасной областью (например, FR1, FR2, FR3 и/или FR4), содержащейся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832. В некоторых вариантах осуществления область VH содержит FR1, FR2, FR3 и/или FR4, выбранные из FR1, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 59-63, 195-203, 308, 309 и 434-439; FR2, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 64-66, 204-209, 310 и 311; FR3, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 67-69, 210-216, 312, 313, 441 и 443; и/или FR4, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 70-71, 217-220, 314, 315, 444 и 445. В некоторых вариантах осуществления область VH содержит FR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, FR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, FR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69, и/или FR4, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70.

[0178] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VH, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832.

[0179] Также предложены антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, имеющие последовательности, по меньшей мере на или по меньшей мере на примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичные таким последовательностям.

Например, в настоящем документе предложено антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, содержащее область VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832.

[0180] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой однодоменное антитело (одАт), содержащее только последовательность области VH, или ее достаточный антигенсвязывающий фрагмент, такую как любая из вышеописанных последовательностей VH (например, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 и/или CDR-H4).

[0181] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в настоящем документе (например, анти-BCMA антитело), или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее область VH, также содержит легкую цепь, или ее достаточный антигенсвязывающий фрагмент. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VH и область VL, или достаточный антигенсвязывающий фрагмент области VH и VL. В таких вариантах осуществления последовательность области VH может представлять собой любую из вышеописанных последовательностей VH. В некоторых таких вариантах осуществления антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент, такой как Fab или scFv. В некоторых таких вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное антитело, которое также содержит константную область.

[0182] В некоторых вариантах осуществления антитело, например, его антигенсвязывающий фрагмент, содержит переменную область легкой цепи (VL), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849. В некоторых вариантах осуществления антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VL, описанную в любом из WO2016090327, WO2016090320 или WO2017173256.

[0183] В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, описанного в настоящем документе (например, анти-BCMA антитела), или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую аминокислотную последовательность  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$  (SEQ ID NO: 358), где  $X_1$  представляет собой A, C, G, H, I, Q или S;  $X_2$  представляет собой A, Q, S или V;  $X_3$  представляет собой S, W или Y;  $X_4$  представляет собой D, F, G, H или Y;  $X_5$  представляет собой D, G, M, R, S или T;  $X_6$  представляет собой A, G, H, L, R, S, T или Y;  $X_7$  представляет собой L, P, R, S или отсутствует;  $X_8$  представляет собой D, G, N, R, S, T или отсутствует;  $X_9$  представляет собой A, G, H, L, P или отсутствует;  $X_{10}$  представляет собой

F, S или отсутствует;  $X_{11}$  представляет собой L, P, W или Y; и  $X_{12}$  представляет собой S, T или V. В некоторых вариантах осуществления в указанной CDR-L3  $X_1$  представляет собой H;  $X_2$  представляет собой V;  $X_3$  представляет собой W;  $X_4$  представляет собой D;  $X_5$  представляет собой R;  $X_6$  представляет собой S;  $X_7$  представляет собой R;  $X_8$  представляет собой D;  $X_9$  представляет собой H;  $X_{10}$  отсутствует;  $X_{11}$  представляет собой Y; и  $X_{12}$  представляет собой V.

[0184] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 и 603 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 591 или 603 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM. В любом из таких примеров антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, может содержать последовательность области VL, выбранную из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849, в которой соответствующая последовательность CDR-L3, содержащаяся в ней (например, соответствующая аминокислотным остаткам L89-L97 по нумерации Kabat), заменена последовательностью CDR-L3, выбранной из любой из SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 и 603 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM.

[0185] В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L3, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849. В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L3, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VL с SEQ ID NO: 610 или SEQ ID NO: 618.

[0186] В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, описанного в настоящем документе (например, анти-BCMA антитела), или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность:  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$  (SEQ ID NO: 356), где  $X_1$  представляет собой G, K, R, S или T;  $X_2$  представляет собой A, G или S;  $X_3$  представляет собой G, N, S или T;  $X_4$  представляет собой G, K, N, Q, R или S;  $X_5$  представляет собой S или отсутствует;  $X_6$  представляет собой D, N, V или отсутствует;  $X_7$  представляет собой L, V или отсутствует;  $X_8$  представляет собой H, S, Y или отсутствует;  $X_9$  представляет собой S, T или отсутствует;  $X_{10}$  представляет собой S или отсутствует;  $X_{11}$  представляет собой D, G, I, N, S или отсутствует;  $X_{12}$  представляет собой D, E, G, K, I, N или отсутствует;  $X_{13}$  представляет собой F, G, K, N, R, S, Y или отсутствует;  $X_{14}$  представляет собой D, K, N, T или отсутствует;  $X_{15}$  представляет собой A, D, G, L, N, S, T или Y;  $X_{16}$  представляет собой L или V;  $X_{17}$

представляет собой A, H, N, Q или S. В некоторых вариантах осуществления  $X_1$  представляет собой G;  $X_2$  представляет собой A;  $X_3$  представляет собой N;  $X_4$  представляет собой N;  $X_5$  отсутствует;  $X_6$  отсутствует;  $X_7$  отсутствует;  $X_8$  отсутствует;  $X_9$  отсутствует;  $X_{10}$  отсутствует;  $X_{11}$  представляет собой I;  $X_{12}$  представляет собой G;  $X_{13}$  представляет собой S;  $X_{14}$  представляет собой K;  $X_{15}$  представляет собой S;  $X_{16}$  представляет собой V;  $X_{17}$  представляет собой H.

[0187] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 или 601 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 607 и 614. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 589 или 601 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM. В любом из таких примеров антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, может содержать последовательность области VL, выбранную из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849, в которой соответствующая последовательность CDR-L1, содержащаяся в ней (например, соответствующая аминокислотным остаткам L24-L34 по нумерации Kabat), заменена последовательностью CDR-L1, выбранной из любой из SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 или 601 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM.

[0188] В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L1, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849. В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L1, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VL с SEQ ID NO: 589, 601, 607 или 614.

[0189] В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, предложенного в настоящем документе (например, анти-BCMA антитела), или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), которая содержит аминокислотную последовательность  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$  (SEQ ID NO: 357), где  $X_1$  представляет собой A, D, E, N, S, V или W;  $X_2$  представляет собой A, D, N, S или V;  $X_3$  представляет собой A, D, H, I, N или S;  $X_4$  представляет собой D, K, N, Q, R или T;  $X_5$  представляет собой L, R или V;  $X_6$  представляет собой A, E, P или Q; и  $X_7$  представляет собой A, D, S или T. В некоторых вариантах осуществления  $X_1$  представляет собой D;  $X_2$  представляет собой D;  $X_3$  представляет собой D;  $X_4$  представляет собой D;  $X_5$  представляет собой R;  $X_6$  представляет собой P; и  $X_7$  представляет собой S.

[0190] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 и 602 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 608 и 615. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 590 или SEQ ID NO: 602 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM. В любом из таких примеров антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, может содержать последовательность области VL, выбранную из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849, в которой соответствующая последовательность CDR-L2, содержащаяся в ней (например, соответствующая аминокислотным остаткам L50-L56 по нумерации Kabat), заменена последовательностью CDR-L2, выбранной из любой из SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 и 602 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM, или любой из SEQ ID NO: 608 и 615.

[0191] В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L2, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849. В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L2, содержащуюся в аминокислотной последовательности области VL с SEQ ID NO: 589, 601, 607 или 614.

[0192] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L1, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 или 601 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM; CDR-L2, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 и 602 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM; и CDR-L3, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 и 603 в соответствии с нумерацией Kabat, нумерацией Chothia или нумерацией AbM.

[0193] В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L1, CDR-L2, и/или CDR-L3 в соответствии с нумерацией Kabat. В некоторых вариантах осуществления область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3 в соответствии с нумерацией Chothia. В некоторых вариантах осуществления

область VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3 в соответствии с нумерацией AbM.

[0194] В некоторых вариантах осуществления антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из: CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26, 37 и 47, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27, 38 и 48, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, 39 и 49, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 29, 40 и 50, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 39 и 51, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 31, 41 и 52, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 32, 42 и 53, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 39 и 54, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 55, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 34, 44 и 56, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, 45 и 57, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 36, 46 и 58, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 184, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 185, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 186, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 187, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 175, 180 и 188, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 189, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 176, 181 и 190, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 177, 182 и 191, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 192, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178, 183 и 193, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178, 183 и 194, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 399 и 415, соответственно; CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 380, 400 и 416,



последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 589, 590 и 591, соответственно; SEQ ID NO: 607, 608 и 591, соответственно; SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

[0195] Например, антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в настоящем документе, содержит область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности, выбранные из: SEQ ID NO: 26, 37 и 47; SEQ ID NO: 27, 38 и 48; SEQ ID NO: 28, 39 и 49; SEQ ID NO: 29, 40 и 50; SEQ ID NO: 30, 39 и 51; SEQ ID NO: 31, 41 и 52; SEQ ID NO: 32, 42 и 53; SEQ ID NO: 30, 39 и 54; SEQ ID NO: 33, 43 и 55; SEQ ID NO: 34, 44 и 56; SEQ ID NO: 35, 45 и 57; SEQ ID NO: 36, 46 и 58; SEQ ID NO: 174, 179 и 184; SEQ ID NO: 174, 179 и 185; SEQ ID NO: 174, 179 и 186; SEQ ID NO: 174, 179 и 187; SEQ ID NO: 175, 180 и 188; SEQ ID NO: 174, 179 и 189; SEQ ID NO: 176, 181 и 190; SEQ ID NO: 177, 182 и 191; SEQ ID NO: 174, 179 и 192; SEQ ID NO: 178, 183 и 193; SEQ ID NO: 178, 183 и 194; SEQ ID NO: 30, 399 и 415; SEQ ID NO: 380, 400 и 416; SEQ ID NO: 33, 43 и 421; SEQ ID NO: 381, 401 и 417; SEQ ID NO: 382, 402 и 418; SEQ ID NO: 383, 403 и 419; SEQ ID NO: 384, 39 и 54; SEQ ID NO: 385, 180 и 58; SEQ ID NO: 175, 180 и 188; SEQ ID NO: 386, 404 и 420; SEQ ID NO: 387, 405 и 422; SEQ ID NO: 388, 406 и 423; SEQ ID NO: 388, 407 и 424; SEQ ID NO: 389, 408 и 425; SEQ ID NO: 390, 183 и 193; SEQ ID NO: 391, 409 и 426; SEQ ID NO: 392, 40 и 427; SEQ ID NO: 394, 39 и 429; SEQ ID NO: 395, 411 и 430; SEQ ID NO: 396, 412 и 431; SEQ ID NO: 396, 412 и 58; SEQ ID NO: 397, 413 и 432; SEQ ID NO: 398, 414 и 433; SEQ ID NO: 589, 590 и 591; SEQ ID NO: 607, 608 и 591; SEQ ID NO: 601, 602 и 603; или SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

[0196] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, соответственно, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, соответственно, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из SEQ ID NO: 610 или SEQ ID NO: 618.

[0197] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VL, которая содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

[0198] В некоторых вариантах осуществления антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, область VL содержит любые из описанных CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, и содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, имеющие по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности, соответственно, с FR1, FR2,

FR3 и/или FR4, содержащимися в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849. Например, анти-BCMA антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, может содержать CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, соответственно, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849, и каркасную область (например, FR1, FR2, FR3 и/или FR4), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичность последовательности с каркасной областью (например, FR1, FR2, FR3 и/или FR4), содержащейся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849. В некоторых вариантах осуществления область VL содержит FR1, FR2, FR3 и/или FR4, выбранные из FR1, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 72-82, 221-227, 316, 317, 446-459 и 461-466; FR2, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 83-92, 228-232, 318, 319, 467-477 и 479-482; FR3, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 93-101, 233-242, 320, 321, 483-495 и 497-501; и/или FR4, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 102-109, 243-246, 322, 323, 502-506 и 508. В некоторых вариантах осуществления область VL содержит FR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79, FR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89, FR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98, и/или FR4, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108.

[0199] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VL, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849. В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 610 или SEQ ID NO: 618.

[0200] Также предложены антитела, имеющие последовательности, по меньшей мере на, или по меньшей мере на примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичные таким последовательностям.

[0201] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или фрагмент, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832, и область VL антитела, или фрагмент, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849.

[0202] Также предложены антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, имеющие последовательности, по меньшей мере на, или по меньшей мере на примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичные таким последовательностям.

Например, в настоящем документе предложено антители, или антигенсвязывающий фрагмент, содержащее область VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849, и/или содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832. В некоторых вариантах осуществления антители, или антигенсвязывающий фрагмент, содержит область VL, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 и 833-849, и область VH, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 и 814-832.

[0203] В некоторых вариантах осуществления область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VH, представляющей собой любую из SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 или 814-832; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VL, представляющей собой любую из SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 или 833-849.

[0204] В некоторых вариантах осуществления область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 110 и 122,







ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 822 и 840, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 823 и 841, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 824 и 842, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 825 и 843, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 826 и 844, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 827 и 845, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 828 и 846, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 829 и 847, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 830 и 847, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 831 и 848, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними; или область VH и область VL содержат последовательности SEQ ID NO: 832 и 849, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с ними.

[0205] В некоторых вариантах осуществления область VH антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 и 814-832; и содержит CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, соответственно, содержащие аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, соответственно, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 и 833-849.

[0206] В некоторых из любых вариантов осуществления VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в последовательности VH с SEQ ID NO: 617; и VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в последовательности VL с SEQ ID NO: 618; VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в последовательности VH с SEQ ID NO: 256; и VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3,

содержащиеся в последовательности VL с SEQ ID NO: 267; VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в последовательности VH с SEQ ID NO: 519; и VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в последовательности VL с SEQ ID NO: 535; VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в последовательности VH с SEQ ID NO: 115; и VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в последовательности VL с SEQ ID NO: 536; или VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в последовательности VH с SEQ ID NO: 609; и VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в последовательности VL с SEQ ID NO: 610. В некоторых из любых вариантов осуществления область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 618; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 256; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 267; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 519; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 535; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 115; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 536; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 609; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 610.

[0207] В некоторых вариантах осуществления область VH представляет собой или содержит (a) CDR-H1, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 593, 611, 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295, 507, 532, 596 или 604; (b) CDR-H2, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 594, 612, 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 597 или 605; и (c) CDR-H3, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 595, 613, 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517 или 606; и область VL представляет собой или содержит (a) CDR-L1, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 601, 614, 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589 или 607; (b) CDR-L2, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 602, 615, 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590 или 608; и (c) CDR-L3, содержащую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 603, 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433 или 591.









последовательности SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 303, 305 и 307, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 589, 590 и 591, соответственно.

[0209] В некоторых вариантах осуществления область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно. В некоторых вариантах осуществления область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно. В некоторых вариантах осуществления область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

[0210] В некоторых вариантах осуществления область VH представляет собой или содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 617, 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 772-774 или 814-832; и область VL представляет собой или содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 618, 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 775-777 или 833-849.

[0211] В некоторых вариантах осуществления области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 110 и 122, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 110 и 123, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 112 и 124, соответственно; области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, содержат







вышеуказанных VH и VL, например, по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с ними.

[0212] Например, области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, содержат аминокислотные последовательности, выбранные из: SEQ ID NO: 110 и 116; SEQ ID NO: 111 и 117; SEQ ID NO: 110 и 118; SEQ ID NO: 110 и 119; SEQ ID NO: 110 и 120; SEQ ID NO: 110 и 121; SEQ ID NO: 110 и 122; SEQ ID NO: 110 и 123; SEQ ID NO: 112 и 124; SEQ ID NO: 113 и 125; SEQ ID NO: 114 и 126; SEQ ID NO: 115 и 127; SEQ ID NO: 247 и 257; SEQ ID NO: 248 и 258; SEQ ID NO: 249 и 259; SEQ ID NO: 250 и 260; SEQ ID NO: 251 и 261; SEQ ID NO: 252 и 262; SEQ ID NO: 253 и 263; SEQ ID NO: 254 и 264; SEQ ID NO: 255 и 265; SEQ ID NO: 256 и 266; SEQ ID NO: 256 и 267; SEQ ID NO: 518 и 534; SEQ ID NO: 519 и 535; SEQ ID NO: 115 и 536; SEQ ID NO: 520 и 264; SEQ ID NO: 521 и 537; SEQ ID NO: 522 и 538; SEQ ID NO: 523 и 539; SEQ ID NO: 519 и 540; SEQ ID NO: 524 и 541; SEQ ID NO: 525 и 261; SEQ ID NO: 526 и 542; SEQ ID NO: 527 и 543; SEQ ID NO: 528 и 544; SEQ ID NO: 529 и 545; SEQ ID NO: 528 и 546; SEQ ID NO: 522 и 547; SEQ ID NO: 256 и 548; SEQ ID NO: 530 и 549; SEQ ID NO: 531 и 550; SEQ ID NO: 519 и 552; SEQ ID NO: 110 и 553; SEQ ID NO: 110 и 118; SEQ ID NO: 533 и 554; SEQ ID NO: 115 и 555; SEQ ID NO: 524 и 556; SEQ ID NO: 519 и 557, SEQ ID NO: 324 и 326, SEQ ID NO: 325 и 327, SEQ ID NO: 609 и 610; SEQ ID NO: 617 и 618; SEQ ID NO: 772 и 775; SEQ ID NO: 773 и 776; SEQ ID NO: 774 и 777; SEQ ID NO: 815 и 833; SEQ ID NO: 816 и 834; SEQ ID NO: 817 и 835; SEQ ID NO: 818 и 836; SEQ ID NO: 819 и 837; SEQ ID NO: 820 и 838; SEQ ID NO: 821 и 839; NO:822 и 840; SEQ ID NO: 823 и 841; SEQ ID NO: 824 и 842; SEQ ID NO: 825 и 843; SEQ ID NO: 826 и 844; SEQ ID NO: 827 и 845; SEQ ID NO: 828 и 846; SEQ ID NO: 829 и 847; SEQ ID NO: 830 и 847; SEQ ID NO: 831 и 848; и SEQ ID NO: 832 и 849, соответственно, или любого антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, которое имеет по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любыми из вышеуказанных VH и VL, например, по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с ними, или любого антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, которое содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH, и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL, любых из вышеуказанных VH и VL.

[0213] В некоторых вариантах осуществления области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, содержат аминокислотные последовательности, выбранные из: SEQ ID NO: 617 и 618; SEQ ID NO: 256 и 267; SEQ ID NO: 519 и 535; SEQ ID NO: 115 и 536; или SEQ ID NO: 609 и 610; соответственно, или любого антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, которое имеет по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любыми из вышеуказанных VH и VL, например, по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с ними, или любого антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, которое содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH, и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL,

любых из вышеуказанных VH и VL.

[0214] В некоторых вариантах осуществления области VH и VL антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, предложенного в настоящем документе, содержат аминокислотные последовательности, выбранные из: SEQ ID NO: 617 и 618, или любого антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, которое имеет по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любыми из вышеуказанных VH и VL, например, по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с ними, или любого антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, которое содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH, и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL, любых из вышеуказанных VH и VL.

[0215] В некоторых вариантах осуществления антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, представляет собой одноцепочечный фрагмент антитела, такой как одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или диатело, или однодоменное антитело (одАт). В некоторых вариантах осуществления антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, представляет собой однодоменное антитело, содержащее только область VH. В некоторых вариантах осуществления антитело, или антигенсвязывающий фрагмент, представляет собой scFv, содержащий переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL). В некоторых вариантах осуществления одноцепочечный фрагмент антитела (например, scFv) содержит один или более линкеров, соединяющих два домена, или области, антитела, например, переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL). Линкер, как правило, представляет собой пептидный линкер, например, гибкий и/или растворимый пептидный линкер. В число линкеров входят линкеры, богатые остатками глицина и серина и/или, в некоторых случаях, треонина. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают заряженные остатки, такие как лизин и/или глутамат, которые могут повышать растворимость. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно содержат один или более остатков пролина.

[0216] Соответственно, предложенные анти-BCMA антитела включают одноцепочечные фрагменты антител, такие как scFv и диатела, в частности, одноцепочечные фрагменты человеческих антител, как правило, содержащие линкер(ы), соединяющие два домена, или области, антитела, например, области VH и VL. Линкер, как правило, представляет собой пептидный линкер, например, гибкий и/или растворимый пептидный линкер, такой как линкер, богатый остатками глицина и серина.

[0217] В некоторых аспектах линкеры, богатые остатками глицина и серина (и/или треонина), содержат по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% таких аминокислот. В некоторых вариантах осуществления они содержат по меньшей мере или примерно 50%, 55%, 60%, 70% или 75% остатков глицина, серина и/или треонина. В некоторых вариантах осуществления линкер практически полностью состоит из остатков глицина, серина и/или треонина. Линкеры, как правило, имеют длину от

примерно 5 до примерно 50 аминокислот, как правило, от или от примерно 10 до или до примерно 30, например, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30, и в некоторых примерах длину от 10 до 25 аминокислот. Иллюстративные линкеры включают линкеры, имеющие разные количества повторов последовательности GGGGS (4 GS; SEQ ID NO: 359) или GGGS (3 GS; SEQ ID NO: 360), например, от 2, 3, 4 до 5 повторов такой последовательности. Иллюстративные линкеры включают линкеры, содержащие, или состоящие из последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 361 (GGGGSGGGSGGGGS). Иллюстративные линкеры также включают линкеры, содержащие, или состоящие из последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 362 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG). Иллюстративные линкеры включают линкеры, содержащие, или состоящие из последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 778 (SRGGGGSGGGSGGGGSLEMA).

[0218] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления предложенные варианты осуществления включают одноцепочечные фрагменты антител, например, scFv, содержащие один или более из вышеописанных линкеров, таких как богатые остатками глицина/серина линкеры, включая линкеры, содержащие повторы GGGS (SEQ ID NO: 360) или GGGGS (SEQ ID NO: 359), такие как линкер, приведенный в SEQ ID NO: 361.

[0219] В некоторых вариантах осуществления линкер имеет аминокислотную последовательность, содержащую последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 361. Фрагмент, например, scFv, может содержать область VH или ее часть, за которой следует линкер, за которым следует область VL или ее часть. Фрагмент, например, scFv, может содержать область VL или ее часть, за которой следует линкер, за которым следует область VH или ее часть.

[0220] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 478, 128-139, 268-278, 329, 442, 558-576, 578-583, 585 или 769-771, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 478, 128-139, 268-278, 329, 442, 558-576, 578-583, 585 или 769-771.

[0221] В некоторых аспектах scFv, предложенный в настоящем документе, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 328, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585, 586 и 769-771, или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере или примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 328, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585, 586 и 769-771.

[0222] Например, scFv, предложенный в настоящем документе, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128, 129, 130, 132, 133, 136, 137, 269, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 328, 329, 442, 478, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580,

581, 582, 583 585, 586, 769, 770, 771, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812 или 813, или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере или примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128, 129, 130, 132, 133, 136, 137, 269, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 328, 329, 442, 478, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583 585, 586, 769, 770, 771, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812 или 813.

[0223] В Таблице 2 представлены SEQ ID NO: иллюстративных антигенсвязывающих доменов, например, антител или антигенсвязывающих фрагментов, которые могут содержаться в предложенных ВСМА-связывающих рецепторах, таких как анти-ВСМА химерные антигенные рецепторы (CAR). В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающий рецептор содержит ВСМА-связывающее антитело, или его фрагмент, содержащее область VH, которая содержит последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и область VL, которая содержит последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, приведенные в SEQ ID NO:, перечисленных в каждом ряду Таблицы 2, ниже(по нумерации Kabat). В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающий рецептор содержит ВСМА-связывающее антитело, или его фрагмент, содержащее последовательность области VH и последовательность области VL, приведенные в SEQ ID NO:, перечисленных в каждом ряду Таблицы 2, ниже(по нумерации Kabat), или антитело, содержащее аминокислотные последовательности областей VH и VL, которые имеют по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VH и последовательностью области VL, приведенными в SEQ ID NO:, перечисленных в каждом ряду Таблицы 2, ниже. В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающий рецептор содержит ВСМА-связывающее антитело, или его фрагмент, содержащее последовательность области VH и последовательность области VL, приведенные в SEQ ID NO:, перечисленных в каждом ряду Таблицы 2, ниже. В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающий рецептор содержит ВСМА-связывающее антитело, или его фрагмент, содержащее последовательность scFv, приведенную в SEQ ID NO:, перечисленных в каждом ряду Таблицы 2, ниже, или антитело, содержащее аминокислотную последовательность scFv, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью scFv, приведенной в SEQ ID NO:, перечисленных в каждом ряду Таблицы 2, ниже. В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающий рецептор содержит ВСМА-связывающее антитело, или его фрагмент, содержащее последовательность scFv, приведенную в SEQ ID NO:, перечисленных в каждом ряду Таблицы 2, ниже.

<b>Таблица 2. Идентификатор последовательности (SEQ ID NO) для иллюстративных</b>
---

<b>антигенсвязывающих доменов</b>									
<b>Антигенсвязывающий домен</b>	<b>CD R- H1</b>	<b>CD R- H2</b>	<b>CD R- H3</b>	<b>CD R- L1</b>	<b>CD R- L2</b>	<b>CD R- L3</b>	<b>VH</b>	<b>VL</b>	<b>scFv</b>
BCMA-1	1	4	7	26	37	47	110	116	128
BCMA-2	2	5	8	27	38	48	111	117	129
BCMA-3	1	4	7	28	39	49	110	118	130
BCMA-4	1	4	7	29	40	50	110	119	131
BCMA-5	1	4	7	30	39	51	110	120	132
BCMA-6	1	4	7	31	41	52	110	121	133
BCMA-7	1	4	7	32	42	53	110	122	134
BCMA-8	1	4	7	30	39	54	110	123	135
BCMA-9	2	5	9	33	43	55	112	124	136
BCMA-10	2	5	10	34	44	56	113	125	137
BCMA-11	3	6	11	35	45	57	114	126	138
BCMA-12	2	5	10	36	46	58	115	127	139
BCMA-13	140	145	149	174	179	184	247	257	268
BCMA-14	141	145	149	174	179	185	248	258	269
BCMA-15	141	145	150	174	179	186	249	259	270
BCMA-16	142	146	151	174	179	187	250	260	271
BCMA-17	2	5	152	175	180	188	251	261	272
BCMA-18	143	147	153	174	179	189	252	262	273
BCMA-19	144	148	154	176	181	190	253	263	274
BCMA-20	3	6	155	177	182	191	254	264	275
BCMA-21	2	5	156	174	179	192	255	265	276
BCMA-22	2	5	157	178	183	193	256	266	277
BCMA-23	2	5	157	178	183	194	256	267	278
BCMA-24	2	6	376	30	399	415	518	534	558
BCMA-25	1	4	7	380	400	416	519	535	559
BCMA-26	2	5	10	33	43	421	115	536	560
BCMA-27	3	6	155	177	182	191	520	264	561
BCMA-28	3	372	376	381	401	417	521	537	562
BCMA-29	3	6	376	382	402	418	522	538	563
BCMA-30	3	6	377	383	403	419	523	539	564

BCMA-31	1	4	7	384	39	54	519	540	565
BCMA-32	2	5	10	385	180	58	524	541	566
BCMA-33	2	373	152	175	180	188	525	261	567
BCMA-34	3	6	11	386	404	420	526	542	568
BCMA-35	2	5	378	33	43	421	527	543	569
BCMA-36	2	5	9	387	405	422	528	544	570
BCMA-37	2	5	9	388	406	423	529	545	571
BCMA-38	2	5	9	388	407	424	528	546	572
BCMA-39	3	6	376	389	408	425	522	547	573
BCMA-40	2	5	157	390	183	193	256	548	574
BCMA-41	2	374	9	391	409	426	530	549	575
BCMA-42	1	4	7	392	40	427	531	550	576
BCMA-44	1	4	7	394	39	429	519	552	578
BCMA-45	1	4	7	395	411	430	110	553	579
BCMA-46	1	4	7	28	39	49	110	118	130
BCMA-47	2	5	10	396	412	431	533	554	580
BCMA-48	2	5	10	396	412	58	115	555	581
BCMA-49	2	5	10	397	413	432	524	556	582
BCMA-51	1	4	7	398	414	433	519	557	583
BCMA-52	507	513	517	589	590	591	609	610	442
BCMA-55	593	594	595	601	602	603	617	618	478
BCMA-C1, VH-VL	288	290	292	302	304	306	324	326	585
BCMA-C1, VL-VH	288	290	292	302	304	306	324	326	328
BCMA-C2, VH-VL	289	291	293	303	305	307	325	327	329
BCMA-C2, VL-VH	289	291	293	303	305	307	325	327	586
BCMA-D1							772	775	769
BCMA-D2							773	776	770
BCMA-D3							774	777	771
BCMA-D4							814		
BCMA-D5							815	833	781
BCMA-D6							816	834	782
BCMA-D7							816	834	783
BCMA-D8							817	835	784
BCMA-D9							817	835	785

BCMA-D10							818	836	786
BCMA-D11							818	836	787
BCMA-D12							819	837	788
BCMA-D13							819	837	789
BCMA-D14							820	838	790
BCMA-D15							820	838	791
BCMA-D16							821	839	792
BCMA-D17							821	839	793
BCMA-D18							822	840	794
BCMA-D19							822	840	795
BCMA-D20							823	841	796
BCMA-D21							823	841	797
BCMA-D22							824	842	798
BCMA-D23							824	842	799
BCMA-D24							824	842	800
BCMA-D25							825	843	801
BCMA-D26							826	844	802
BCMA-D27							827	845	803
BCMA-D28							828	846	804
BCMA-D29									805
BCMA-D30							829	847	806
BCMA-D31							830	847	807
BCMA-D32							831	848	808
BCMA-D33							832	849	809
BCMA-D34									810
BCMA-D35							832	849	811
BCMA-D36							831	848	812
BCMA-D37									813

[0224] В число антител, например, антигенсвязывающих фрагментов, в предложенных CAR входят человеческие антитела. В некоторых вариантах осуществления предложенных человеческих анти-BCMA антител, например, антигенсвязывающих фрагментов, человеческое антитело содержит область VH, содержащую фрагмент, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента

тяжелой цепи, фрагмент, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии D-сегмента тяжелой цепи, и/или фрагмент, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии J-сегмента тяжелой цепи; и/или содержит область VL, содержащую фрагмент, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента цепи каппа или лямбда, и/или фрагмент, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии J-сегмента цепи каппа или лямбда. В некоторых вариантах осуществления фрагмент области VH соответствует CDR-H1, CDR-H2 и/или CDR-H3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент области VH соответствует каркасной области 1 (FR1), FR2, FR2 и/или FR4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент области VL соответствует CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент области VL соответствует FR1, FR2, FR2 и/или FR4.

[0225] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H1, имеющую по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью соответствующей области CDR-H1 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента тяжелой цепи. Например, человеческое антитело в некоторых вариантах осуществления содержит CDR-H1, имеющую последовательность, которая на 100% идентична или имеет не более одного, двух или трех аминокислотных отличий в сравнении с соответствующей областью CDR-H1 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента тяжелой цепи.

[0226] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H2, имеющую по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью соответствующей области CDR-H2 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента тяжелой цепи. Например, человеческое антитело в некоторых вариантах осуществления содержит CDR-H2, имеющую последовательность, которая на 100% идентична или имеет не более одного, двух или трех аминокислотных отличий в сравнении с соответствующей областью CDR-H2 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента

тяжелой цепи.

[0227] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-H3, имеющую по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью соответствующей области CDR-H3 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента, D-сегмента и J-сегмента тяжелой цепи. Например, человеческое антитело в некоторых вариантах осуществления содержит CDR-H3, имеющую последовательность, которая на 100% идентична или имеет не более одного, двух или трех аминокислотных отличий в сравнении с соответствующей областью CDR-H3 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента, D-сегмента и J-сегмента тяжелой цепи.

[0228] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L1, имеющую по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью соответствующей области CDR-L1 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента легкой цепи. Например, человеческое антитело в некоторых вариантах осуществления содержит CDR-L1, имеющую последовательность, которая на 100% идентична или имеет не более одного, двух или трех аминокислотных отличий в сравнении с соответствующей областью CDR-L1 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента легкой цепи.

[0229] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L2, имеющую по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью соответствующей области CDR-L2 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента легкой цепи. Например, человеческое антитело в некоторых вариантах осуществления содержит CDR-L2, имеющую последовательность, которая на 100% идентична или имеет не более одного, двух или трех аминокислотных отличий в сравнении с соответствующей областью CDR-L2 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента легкой цепи.

[0230] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит CDR-L3, имеющую по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью соответствующей области CDR-L3 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента и J-сегмента легкой цепи. Например, человеческое антитело в некоторых вариантах осуществления содержит CDR-L3, имеющую последовательность, которая на 100% идентична или имеет не более одного, двух или трех аминокислотных отличий в

сравнении с соответствующей областью CDR-L3 в последовательности, закодированной человеческой нуклеотидной последовательностью зародышевой линии V-сегмента и J-сегмента легкой цепи.

[0231] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, содержит каркасную область, содержащую человеческие последовательности генных сегментов зародышевой линии. Например, в некоторых вариантах осуществления человеческое антитело содержит область VH, в которой каркасная область, например, FR1, FR2, FR3 и FR4, имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с каркасной областью, закодированной сегментом зародышевой линии человеческого антитела, таким как V-сегмент и/или J-сегмент. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело содержит область VL, в которой каркасная область например, FR1, FR2, FR3 и FR4, имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность последовательности с каркасной областью, закодированной сегментом зародышевой линии человеческого антитела, таким как V-сегмент и/или J-сегмент. Например, в некоторых таких вариантах осуществления последовательность каркасной области, содержащаяся в области VH и/или области VL, отличается не более чем 10 аминокислотами, например, не более чем 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотой, в сравнении с последовательностью каркасной области, закодированной сегментом зародышевой линии человеческого антитела.

[0232] В некоторых вариантах осуществления эталонное антитело может представлять собой мышинный анти-BCMA scFv, описанный в публикации международной патентной заявки № WO2010/104949.

[0233] Антитело, например, антигенсвязывающий фрагмент, может содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина, например, один или более доменов константной области. В некоторых вариантах осуществления константные области включают константную область легкой цепи и/или константную область 1 тяжелой цепи (CH1). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит домен CH2 и/или CH3, например, Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область человеческого IgG, такого как IgG1 или IgG4.

## ***2. Спейсер***

[0234] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, такой как CAR, содержащий антитело (например, антигенсвязывающий фрагмент), предложенное в настоящем документе, дополнительно содержит спейсер или спейсерную область. Спейсер, как правило, представляет собой полипептидный спейсер и, как правило, расположен в CAR между антигенсвязывающим доменом и трансмембранным доменом CAR. В некоторых аспектах спейсер может представлять собой или включать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина, или ее вариант или модифицированную версию, например, шарнирную область иммуноглобулина, такую как шарнирная область IgG, например, шарнирная область из IgG4 или полученная из IgG4, и/или CH1/CL, и/или Fc-область. В некоторых вариантах осуществления константная область, или один или

более ее фрагментов, получена из человеческого IgG, например, из человеческого IgG4 или IgG1, или IgG2. Как правило, спейсер, такой как фрагмент константной области, служит в качестве спейсерной области между узнающим антиген компонентом (например, scFv) и трансмембранным доменом. В некоторых вариантах осуществления длину и/или состав спейсера проектируют для оптимизации или стимуляции некоторых особенностей взаимодействия между CAR и его мишенью; в некоторых аспектах их проектируют для оптимизации биофизического синапсного расстояния между CAR-экспрессирующей клеткой и клеткой, экспрессирующей мишень CAR, в течение или в процессе, или после связывания CAR с его мишенью на экспрессирующей мишень клетке; в некоторых аспектах экспрессирующая мишень клетка представляет собой ВСМА-экспрессирующую клетку опухоли. В некоторых вариантах осуществления CAR экспрессируется Т-клеткой, и длина спейсера представляет собой длину, совместимую с Т-клеточной активацией или позволяющую оптимизировать активность CAR Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой спейсерную область, расположенную между лиганд-связывающим доменом и трансмембранным доменом рекомбинантного рецептора, например, CAR. В некоторых вариантах осуществления спейсерная область представляет собой область, расположенную между лиганд-связывающим доменом и трансмембранным доменом рекомбинантного рецептора, например, CAR.

[0235] В некоторых вариантах осуществления спейсер может иметь такую длину, которая обеспечивает повышенную реакционную способность клетки после связывания антигена, в сравнении с отсутствием спейсера и/или присутствием другого спейсера, например, спейсера, отличающегося только длиной. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет длину по меньшей мере 100 аминокислот, например, длину по меньшей мере 110, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240 или 250 аминокислот. В некоторых примерах спейсер имеет длину, или длину примерно, 12 аминокислот, или имеет длину не более 12 аминокислот. Иллюстративные спейсеры включают спейсеры, содержащие по меньшей мере примерно 10-300 аминокислот, примерно 10-200 аминокислот, примерно 50-175 аминокислот, примерно 50-150 аминокислот, примерно 10-125 аминокислот, примерно 50-100 аминокислот, примерно 100-300 аминокислот, примерно 100-250 аминокислот, примерно 125-250 аминокислот или примерно 200-250 аминокислот, включая любое целое число между конечными точками любого из перечисленных диапазонов. В некоторых вариантах осуществления спейсер, или спейсерная область, имеет длину по меньшей мере примерно 12 аминокислот, по меньшей мере примерно 119 аминокислот или менее, по меньшей мере примерно 125 аминокислот, по меньшей мере примерно 200 аминокислот или по меньшей мере примерно 220 аминокислот, или по меньшей мере примерно 225 аминокислот.

[0236] В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет длину 125-300 аминокислот, длину 125-250 аминокислот, длину 125-230 аминокислот, длину 125-200 аминокислот, длину 125-180 аминокислот, длину 125-150 аминокислот, длину 150-300 аминокислот, длину 150-250 аминокислот, длину 150-230 аминокислот, длину 150-200

аминокислот, длину 150-180 аминокислот, длину 180-300 аминокислот, длину 180-250 аминокислот, длину 180-230 аминокислот, длину 180-200 аминокислот, длину 200-300 аминокислот, длину 200-250 аминокислот, длину 200-230 аминокислот, длину 230-300 аминокислот, длину 230-250 аминокислот или длину 250-300 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет длину по меньшей мере или по меньшей мере примерно, или имеет длину или длину примерно 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228 или 229 аминокислот, или длину в промежутке между любыми перечисленными значениями.

[0237] Иллюстративные спейсеры включают спейсеры, содержащие часть(и) константной области иммуноглобулина, например, те, которые содержат шарнир Ig, например шарнирный домен IgG. В некоторых аспектах спейсер содержит только шарнир IgG, шарнир IgG, связанный с одним или более из доменов CH2 и CH3, или шарнир IgG, связанный с доменом CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнир IgG, CH2 и/или CH3 могут быть полностью или частично получены из IgG4 или IgG2. В некоторых вариантах осуществления спейсер может представлять собой химерный полипептид, содержащий одну или более из последовательностей шарнира, CH2 и/или CH3, полученных из IgG4, IgG2 и/или IgG2 и IgG4. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит всю, или часть шарнирной области IgG4 и/или шарнирной области IgG2, при этом шарнирная область IgG4, необязательно, представляет собой шарнирную область человеческого IgG4, и шарнирная область IgG2, необязательно, представляет собой шарнирную область человеческого IgG2; область CH2 включает всю, или часть области CH2 IgG4 и/или области CH2 IgG2, при этом область CH2 IgG4, необязательно, представляет собой область CH2 человеческого IgG4, и область CH2 IgG2, необязательно, представляет собой область CH2 человеческого IgG2; и/или область CH3 включает всю, или часть области CH3 IgG4 и/или области CH3 IgG2, при этом область CH3 IgG4, необязательно, представляет собой область CH3 человеческого IgG4, и область CH3 IgG2, необязательно, представляет собой область CH3 человеческого IgG2. В некоторых вариантах осуществления шарнир, CH2 и CH3 содержат полностью, или частично, каждый из шарнирной области, CH2 и CH3 из IgG4. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область является химерной и содержит шарнирную область из человеческого IgG4 и человеческого IgG2; область CH2 является химерной и содержит область CH2 из человеческого IgG4 и человеческого IgG2; и/или область CH3 является химерной и содержит область CH3 из человеческого IgG4 и человеческого IgG2. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4, имеющий по меньшей мере одну аминокислотную замену в сравнении с шарнирной областью человеческого IgG4; химерную область CH2 человеческого IgG2/4 и область CH3 человеческого IgG4.

[0238] В некоторых вариантах осуществления спейсер может быть получен полностью или частично из IgG4 и/или IgG2, и может иметь мутации, например, одну или более одиночных аминокислотных мутаций в одном или более доменах. В некоторых

примерах аминокислотная модификация представляет собой замену пролина (P) на серин (S) в шарнирной области IgG4. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная модификация представляет собой замену глутамина (Q) на аспарагин (N) для уменьшения гетерогенности гликозилирования, например, мутацию N177Q в положении 177 в области CH2 полноразмерной последовательности Fc IgG4, приведенной в SEQ ID NO: 750, или N176Q в положении 176 в области CH2 полноразмерной последовательности Fc IgG2, приведенной в SEQ ID NO: 749. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой или содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область CH2 IgG2/4 и область CH3 IgG4, и, необязательно, содержит примерно 228 аминокислот; или спейсер с SEQ ID NO: 649. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит аминокислотную последовательность

ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF  
 NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY  
 KTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK  
 (SEQ ID NO: 649),

закодированную полинуклеотидом, который был оптимизирован для экспрессии кодонов и/или для устранения сайтов сплайсинга, таких как скрытые сайты сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления кодирующая последовательность для спейсера содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622. В некоторых вариантах осуществления кодирующая последовательность для спейсера содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 855 или 856.

[0239] Дополнительные иллюстративные спейсеры включают, но без ограничения, те, которые описаны в Hudecek *et al.* (2013) Clin. Cancer Res., 19:3153, Hudecek *et al.* (2015) Cancer Immunol. Res., 3(2):125-135, или публикации международной патентной заявки с номером WO2014031687. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность спейсера оптимизирована для уменьшения гетерогенности РНК после экспрессии. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность спейсера оптимизирована для уменьшения количества скрытых сайтов сплайсинга или уменьшения вероятности события сплайсинга в сайте сплайсинга.

[0240] В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 363, и закодирован полинуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 364. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 365. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 366. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 630, и закодирован полинуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 629. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649, и закодирован полинуклеотидной

последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 621, 622, 855 или 856, или полинуклеотидом, имеющим по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичность последовательности с SEQ ID NO: 621, 622, 855 или 856. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или более, идентичность последовательности с SEQ ID NO: 649, закодированной полинуклеотидом, который, необязательно, был оптимизирован для использования кодонов и/или для уменьшения гетерогенности РНК.

[0241] В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, закодированную нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 622.

### ***3. Трансмембранный домен и внутриклеточные сигнальные компоненты***

[0242] Антиген-узнающий компонент, как правило, связан с одной или более внутриклеточными сигнальными областями, содержащими сигнальные компоненты, такие как сигнальные компоненты, имитирующие стимуляцию и/или активацию через комплекс антигенного рецептора, такой как комплекс TCR, в случае CAR и/или сигнал через другой клеточный поверхностный рецептор. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающая молекула (например, антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент) связана с одним или более трансмембранными доменами, такими как те, которые описаны в настоящем документе, и внутриклеточными сигнальными областями, или доменами, содержащими один или более внутриклеточных компонентов, таких как те, которые описаны в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен слит с внеклеточным доменом. В одном варианте осуществления используют трансмембранный домен, который естественным образом связан с одним из доменов в рецепторе, например, CAR. В некоторых случаях трансмембранный домен выбирают или модифицируют путем аминокислотных замен во избежание связывания таких доменов с трансмембранными доменами таких же, или иных, поверхностных мембранных белков с целью минимизации взаимодействий с другими компонентами рецепторного комплекса.

[0243] Трансмембранный домен в некоторых вариантах осуществления получен либо из природного, либо из синтетического источника. В некоторых аспектах, если источник является природным, домен получен из любого связанного с мембраной или трансмембранного белка. Трансмембранные домены включают домены, полученные из (то есть содержащие по меньшей мере трансмембранный домен(ы)) альфа, бета или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD3-эпсилон, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD28, CD33, CD37, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 и/или CD154. Например, трансмембранный домен может представлять собой трансмембранный домен CD28, который содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 624, закодированную нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 623 или

SEQ ID NO: 688. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен является синтетическим. В некоторых аспектах синтетический трансмембранный домен содержит преимущественно гидрофобные остатки, такие как лейцин и валин. В некоторых аспектах триплет из остатков фенилаланина, триптофана и валина находится на каждом конце синтетического трансмембранного домена. В некоторых вариантах осуществления связь осуществляется за счет линкеров, спейсеров и/или трансмембранного домена(ов).

[0244] В число внутриклеточных сигнальных областей, или доменов, входят те, которые имитируют или аппроксимируют сигнал через естественный антигенный рецептор, сигнал через такой рецептор в сочетании с костимулирующим рецептором и/или сигнал только через костимулирующий рецептор. В некоторых вариантах осуществления имеется короткий олиго- или полипептидный линкер, например, линкер длиной от 2 до 10 аминокислот, например, линкер, содержащий остатки глицина и серина, например, дуплет глицин-серин, который является связывающим звеном между трансмембранным доменом и цитоплазматическим сигнальным доменом CAR.

[0245] Рецептор, например, CAR, как правило, содержит внутриклеточную сигнальную область, содержащую по меньшей мере один внутриклеточный сигнальный компонент или компоненты. В некоторых вариантах осуществления рецептор содержит внутриклеточный компонент или сигнальный домен комплекса TCR, например цепь CD3 TCR, который опосредует Т-клеточную активацию и цитотоксичность, например, дзета-цепь CD3. Таким образом, в некоторых аспектах ВСМА-связывающее антитело связано с одним или более сигнальными модулями клетки. В некоторых вариантах осуществления сигнальные модули клетки включают трансмембранный домен CD3, внутриклеточные сигнальные домены CD3 и/или другие трансмембранные домены CD3. В некоторых вариантах осуществления рецептор, например, CAR, также содержит часть одной или более дополнительных молекул, таких как Fc-рецептор  $\gamma$ , CD8, CD4, CD25 или CD16. Например, в некоторых аспектах CAR содержит химерную молекулу из CD3-дзета (CD3- $\zeta$ ) или Fc-рецептора  $\gamma$  и CD8, CD4, CD25 или CD16.

[0246] В некоторых вариантах осуществления при связывании, или после связывания, CAR цитоплазматический домен или внутриклеточный сигнальный домен CAR стимулирует и/или активирует по меньшей мере одну из нормальных эффекторных функций, или ответов, иммунной клетки, например, Т-клетки, генетически модифицированной для экспрессии CAR. Например, в некоторых контекстах CAR индуцирует такую функцию Т-клетки, как цитолитическая активность или Т-хелперная активность, например, секрецию цитокинов или других факторов. В некоторых вариантах осуществления используют укороченный фрагмент компонента внутриклеточного сигнального домена антигенного рецептора или костимулирующей молекулы вместо интактной иммуностимулирующей цепи, например, если он передает сигнал эффекторной функции. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен или домены содержат цитоплазматические последовательности Т-клеточного рецептора (TCR),

и в некоторых аспектах также цитоплазматические последовательности корцепторов, которые в естественном контексте действуют согласованно с таким рецептором, инициируя сигнализацию после связывания антигенного рецептора, и/или любое производное или вариант таких молекул, и/или любую синтетическую последовательность, обладающую такой же функциональной способностью.

[0247] В контексте естественного TCR для полной активации, как правило, требуется не только сигнализация через TCR, но также и костимулирующий сигнал. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления для стимуляции полной активации в CAR также включают компонент для генерирования вспомогательного или костимулирующего сигнала. В других вариантах осуществления CAR не содержит компонент для генерирования костимулирующего сигнала. В некоторых аспектах дополнительный CAR экспрессируется в той же клетке и обеспечивает компонент для генерирования вспомогательного или костимулирующего сигнала.

[0248] В некоторых аспектах описано, что Т-клеточная активация опосредуется цитоплазматическими сигнальными последовательностями двух видов: теми, которые инициируют антиген-зависимую основную активацию через TCR (основные цитоплазматические сигнальные последовательности), и теми, которые действуют независимым от антигена образом, обеспечивая вспомогательный или костимулирующий сигнал (вспомогательные цитоплазматические сигнальные последовательности). В некоторых аспектах CAR содержит цитоплазматические сигнальные последовательности одного или обоих видов.

[0249] В некоторых аспектах CAR содержит основную цитоплазматическую сигнальную последовательность, которая регулирует основную стимуляцию и/или активацию комплекса TCR. Основные цитоплазматические сигнальные последовательности, которые действуют стимулирующим образом, могут содержать сигнальные мотивы, которые известны как иммунорецепторные тирозиновые активирующие мотивы, или ITAM. Примеры ITAM-содержащих основных цитоплазматических сигнальных последовательностей включают те, которые получены из TCR или CD3-дзета, FcR-гамма, CD3-гамма, CD3-дельта и CD3-эпсилон. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область, или домен, в CAR содержит цитоплазматический сигнальный домен, его часть или последовательность, полученные из CD3-дзета. В некоторых вариантах осуществления CD3-дзета содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, закодированную нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 627 или SEQ ID NO: 652.

[0250] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит сигнальный домен (например, внутриклеточный или цитоплазматический сигнальный домен) и/или трансмембранный фрагмент костимулирующей молекулы, такой как Т-клеточная костимулирующая молекула. Иллюстративные костимулирующие молекулы включают CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 и ICOS. Например, костимулирующая молекула может быть получена из 4-1BB и может содержать аминокислотную последовательность, приведенную

в SEQ ID NO: 626, закодированную нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 625 или SEQ ID NO: 681. В некоторых аспектах один и тот же CAR содержит как стимулирующие или активирующие компоненты (например, цитоплазматическую сигнальную последовательность), так и костимулирующие компоненты.

[0251] В некоторых вариантах осуществления стимулирующие или активирующие компоненты включены в один CAR, в то время как костимулирующий компонент предоставляет другой CAR, узнающий другой антиген. В некоторых вариантах осуществления CAR включают активирующие или стимулирующие CAR и костимулирующие CAR, оба экспрессируемые на одной и той же клетке (смотри WO2014/055668). В некоторых аспектах ВСМА-нацеленный CAR представляет собой стимулирующий или активирующий CAR; в других аспектах он представляет собой костимулирующий CAR. В некоторых вариантах осуществления клетки также содержат ингибирующий CAR (iCAR, смотри Fedorov *et al.*, *Sci. Transl. Medicine*, 5(215) (December, 2013), такой как CAR, узнающий антиген, отличный от ВСМА, в результате чего стимулирующий или активирующий сигнал, доставляемый через ВСМА-нацеленный CAR, уменьшается или ингибируется за счет связывания ингибирующего CAR с его лигандом, например, для уменьшения нецелевых эффектов.

[0252] В конкретных вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область содержит трансмембранный и сигнальный домен CD28, связанные с внутриклеточным доменом CD3 (например, CD3-дзета). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит химерные костимулирующие домены CD28 и CD137 (4-1BB, TNFRF9), связанные с внутриклеточным доменом CD3-дзета.

[0253] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит один или более, например, два или более, костимулирующих доменов и стимулирующий или активирующий домен, например, основной активирующий домен, в цитоплазматическом фрагменте. Иллюстративные CAR содержат внутриклеточные компоненты CD3-дзета, CD28 и 4-1BB.

[0254] В некоторых вариантах осуществления предложенный химерный антигенный рецептор содержит: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген созревания В-клеток (ВСМА), такой как любой антигенсвязывающий домен, описанный в настоящем документе; (b) спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот; (c) трансмембранный домен и (d) внутриклеточную сигнальную область. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит область VH и область VL, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит область VH, которая представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH с SEQ ID NO: 617; и область VL, которая представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в

аминокислотной последовательности области VL с SEQ ID NO: 618. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит область VH, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 617; и область VL, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 618. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 478. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область содержит стимулирующий цитоплазматический сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления стимулирующий цитоплазматический сигнальный домен, способный индуцировать основной сигнал активации в Т-клетке, представляет собой компонент Т-клеточного рецептора (TCR) и/или содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM). В некоторых вариантах осуществления стимулирующий цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления стимулирующий цитоплазматический домен является человеческим или получен из человеческого белка. В некоторых вариантах осуществления стимулирующий цитоплазматический домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая стимулирующий цитоплазматический домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 627, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность. В других вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая стимулирующий цитоплазматический сигнальный домен, представляет собой или содержит

последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 652. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующую сигнальную область. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы или его сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS, или его сигнальный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область является человеческой или получена из человеческого белка. В других вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 626, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 626. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая костимулирующую область, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 625, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая костимулирующую сигнальную область, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 681. В некоторых вариантах осуществления костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и внутриклеточной сигнальной областью. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD4, CD28 или CD8. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD28. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен является человеческим или получен из человеческого белка. В других вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 624, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 624.

[0255] Предложены химерные антигенные рецепторы, содержащие: (1) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически связывающий человеческий антиген созревания В-клеток (BCMA), при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит: (i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VH SEQ ID NO: 617; и (ii) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью области VL,

представляющей собой SEQ ID NO: 618; (2) спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649, или нуклеиновая кислота, кодирующая спейсер, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622; (3) трансмембранный домен, необязательно, трансмембранный домен из человеческого CD28; и (4) внутриклеточную сигнальную область, содержащую цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ) и внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие такой химерный антигенный рецептор.

[0256] В некоторых вариантах осуществления область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH с последовательностью SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL с последовательностью SEQ ID NO: 618; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

[0257] Предложены химерные антигенные рецепторы, содержащие: (1) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически связывающий человеческий антиген созревания В-клеток (BCMA), при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит: переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH с последовательностью SEQ ID NO: 617; и переменную область легкой цепи (VL), содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL с последовательностью SEQ ID NO: 618; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в области VH с последовательностью SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в области VL с последовательностью SEQ ID NO: 618; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595,

соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно; (2) спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649, или нуклеиновая кислота, кодирующая спейсер, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622; (3) трансмембранный домен, необязательно, трансмембранный домен из человеческого CD28; и (4) внутриклеточную сигнальную область, содержащую цитоплазматический сигнальный домен человеческой дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ) и внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы, необязательно, из человеческого 4-1BB или человеческого CD28. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие такой химерный антигенный рецептор. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит область VH с последовательностью SEQ ID NO: 617 и область VL с последовательностью SEQ ID NO: 618. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен такого рецептора содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 478. В некоторых вариантах осуществления другие домены, области или компоненты химерного антигенного рецептора включают любые домены, области или компоненты, описанные в настоящем документе.

#### ***4. Суррогатный маркер***

[0258] В некоторых вариантах осуществления CAR дополнительно содержит суррогатный маркер, такой как клеточный поверхностный маркер (например, укороченный клеточный поверхностный маркер), который может быть использован для подтверждения трансдукции или генетической модификации клетки для экспрессии рецептора. Например, в некоторых аспектах гены внешних маркеров используют совместно с генетически модифицированными терапевтическими клетками для создания возможности обнаружения или селекции клеток и, в некоторых случаях, также для стимуляции самоуничтожения клеток за счет ADCC. Иллюстративные гены маркеров включают гены укороченного рецептора эпидермального фактора роста (EGFRt), который может быть совместно экспрессирован с интересующим трансгеном (например, CAR или TCR) в трансдуцированных клетках (смотри, например, патент США № 8802374). EGFRt содержит эпитоп, узнаваемый антителом цетуксимабом (эрбитукс®). Вследствие этого, эрбитукс® можно использовать для идентификации или селекции клеток, которые были генетически модифицированы конструктом EGFRt, в том числе клеток, которые были также совместно генетически модифицированы другим рекомбинантным рецептором, таким как химерный антигенный рецептор (CAR). Кроме того, EGFRt, как правило, используют в качестве механизма самоуничтожения в случае терапевтических клеток. В некоторых аспектах, если EGFRt совместно экспрессируется в клетках с интересующим трансгеном (например, CAR или TCR), на него может быть нацелено моноклональное антитело цетуксимаб для сокращения количества или истощения перенесенных генетически модифицированных

клеток посредством ADCC (смотри патент США № 8802374 и Liu *et al.*, Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434). Важно отметить, что для подхода с самоуничтожением клеток за счет использования tEGFR необходима доступность эпитопа антитела. Другим примером такого гена маркера является простатический специфический мембранный антиген (PSMA) или его модифицированная форма. PSMA, или его модифицированные формы, могут содержать аминокислотную последовательность, связываемую или узнаваемую PSMA-нацеленной молекулой, такой как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. PSMA-нацеленные молекулы могут быть использованы для идентификации или селекции клеток, которые были генетически модифицированы PSMA или модифицированным конструктом, в том числе клеток, которые были также совместно генетически модифицированы другим рекомбинантным рецептором, таким как химерный антигенный рецептор (CAR), предложенный в настоящем документе. В некоторых аспектах маркер включает весь, или часть (например, укороченную форму), CD34, рецептор фактора роста нервов (NGFR), рецептор эпидермального фактора роста (например, EGFR) или PSMA.

[0259] Иллюстративные суррогатные маркеры могут включать укороченные формы полипептидов клеточной поверхности, например, укороченные формы, которые являются нефункциональными и не передают, или не способны передавать, сигнал, или сигнал, обычно передаваемый полноразмерной формой полипептида клеточной поверхности, и/или не подвергаются, или не способны подвергаться, интернализации. Иллюстративные укороченные полипептиды клеточной поверхности включают укороченные формы рецепторов факторов роста или других рецепторов, такие как укороченный рецептор 2 человеческого эпидермального фактора роста (tHER2), укороченный рецептор эпидермального фактора роста (tEGFR, иллюстративная последовательность tEGFR приведена в SEQ ID NO: 11 или 76) или простатический специфический мембранный антиген (PSMA), или его модифицированная форма. tEGFR может содержать эпитоп, узнаваемый антителом цетуксимабом (эрбитукс<sup>®</sup>) или другим терапевтическим анти-EGFR антителом, или связывающей молекулой, он может быть использован для идентификации или селекции клеток, генетически модифицированных конструктом tEGFR и закодированным экзогенным белком, и/или для элиминации или отделения клеток, экспрессирующих закодированный экзогенный белок. Смотри патент США № 8802374 и публикацию Liu *et al.*, Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434). В некоторых аспектах маркер, например, суррогатный маркер, содержит весь, или часть (например, укороченную форму), CD34, NGFR, CD19, или укороченный CD19, например, укороченный не принадлежащий человеку CD19, или рецептор эпидермального фактора роста (например, tEGFR). В некоторых вариантах осуществления маркер представляет собой или включает флуоресцентный белок, например, зеленый флуоресцентный белок (GFP), усиленный зеленый флуоресцентный белок (EGFP), такой как суперсворачиваемый GFP (sfGFP), красный флуоресцентный белок (RFP), такой как tdTomato, mCherry, mStrawberry, AsRed2, DsRed или DsRed2, голубой флуоресцентный белок (CFP), сине-зеленый флуоресцентный белок (BFP), усиленный синий флуоресцентный белок (EBFP) и желтый флуоресцентный

белок (YFP), а также их варианты, включая видовые варианты, мономерные варианты и кодон-оптимизированные и/или усиленные варианты флуоресцентных белков. В некоторых вариантах осуществления маркер представляет собой или включает фермент, такой как люцифераза, ген *lacZ* из *E. coli*, щелочная фосфатаза, секретируемая эмбриональная щелочная фосфатаза (SEAP), хлорамфеникол-ацетилтрансфераза (CAT). Иллюстративные светоизлучающие белки-репортеры включают люциферазу (*luc*),  $\beta$ -галактозидазу, хлорамфеникол-ацетилтрансферазу (CAT),  $\beta$ -глюкуронидазу (GUS) или их варианты.

[0260] В некоторых вариантах осуществления маркер представляет собой селективный маркер. В некоторых вариантах осуществления селективный маркер представляет собой или включает полипептид, придающий устойчивость к экзогенным средствам или лекарственным средствам. В некоторых вариантах осуществления селективный маркер представляет собой ген устойчивости к антибиотику. В некоторых вариантах осуществления селективный маркер, представляющий собой ген устойчивости к антибиотику, придает устойчивость к антибиотику клетке млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления селективный маркер представляет собой или включает ген устойчивости к пуромицину, ген устойчивости к гигромицину, ген устойчивости к бластицидину, ген устойчивости к неомицину, ген устойчивости к генетицину или ген устойчивости к зеоцину, или его модифицированную форму.

[0261] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая маркер, функционально связана с полинуклеотидом, кодирующим последовательность линкера, например, последовательность расщепляемого линкера, например, T2A. См. WO2014031687. В некоторых вариантах осуществления при введении конструкта, кодирующего CAR и суррогатный маркер, разделенные элементом проскока рибосомы T2A, два белка могут экспрессироваться с одного и того же конструкта, так что суррогатный маркер может быть использован в качестве маркера для обнаружения клеток, экспрессирующих такой конструкт. В некоторых вариантах осуществления последовательность суррогатного маркера и, необязательно, линкера, может быть любой из раскрытых в международной публикации № WO2014031687. Например, маркер может представлять собой укороченный EGFR (tEGFR) или PSMA, который, необязательно, связан с последовательностью линкера, такой как последовательность расщепляемого линкера 2A (например, расщепляемого линкера T2A, P2A, E2A или F2A, описанного в другом разделе настоящего документа). Иллюстративный полипептид суррогатного маркера укороченного EGFR содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 634, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или более, идентичность последовательности с SEQ ID NO: 634. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой или содержит богатую остатками глицина-серина последовательность или другой гибкий линкер, такой как известные гибкие линкеры.

[0262] В некоторых вариантах осуществления маркер представляет собой молекулу, например, клеточный поверхностный белок, обычно не присутствующий на Т-клетках, или обычно не присутствующий на поверхности Т-клеток, или его часть.

[0263] В некоторых вариантах осуществления молекула является не собственной молекулой, например, не собственным белком, то есть, молекулой, которая не узнается, как «собственная», иммунной системой хозяина, которому клетки будут адоптивно перенесены.

[0264] В некоторых вариантах осуществления маркер не имеет терапевтическую функцию и/или не производит какой-либо эффект, а используется лишь в качестве маркера для генетической модификации, например, для селекции успешно генетически модифицированных клеток. В других вариантах осуществления маркер может представлять собой терапевтическую молекулу или молекулу, иным образом производящую нужный эффект, например, лиганд для клетки, которая будет встречаться *in vivo*, например, костимулирующую молекулу или молекулу иммунной контрольной точки для усиления и/или подавления ответов клеток после адоптивного переноса и встречи с лигандом.

[0265] В некоторых случаях CAR называют CAR первого, второго и/или третьего поколения. В некоторых аспектах CAR первого поколения представляет собой CAR, который при связывании антигена обеспечивает исключительно индуцированный цепью CD3 сигнал; в некоторых аспектах CAR второго поколения представляет собой CAR, который обеспечивает такой сигнал и костимулирующий сигнал, например, CAR, содержащий внутриклеточный сигнальный домен из костимулирующего рецептора, такого как CD28 или CD137; в некоторых аспектах CAR третьего поколения представляет собой CAR, который содержит несколько костимулирующих доменов из разных костимулирующих рецепторов.

[0266] В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит внеклеточный фрагмент, содержащий антитело, или фрагмент, описанное в настоящем документе. В некоторых аспектах химерный антигенный рецептор содержит внеклеточный фрагмент, содержащий антитело, или фрагмент, описанное в настоящем документе, и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления антитело, или фрагмент, включает scFv или однодоменное антитело, содержащее только область VH, и внутриклеточный домен содержит ITAM. В некоторых аспектах внутриклеточный сигнальный домен включает сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ). В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит трансмембранный домен, связывающий внеклеточный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых аспектах трансмембранный домен содержит трансмембранный фрагмент CD28. Внеклеточный домен и трансмембранный домен могут быть связаны непосредственно или опосредованно. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен и трансмембранный домен связаны спейсером, таким как любой спейсер, описанный в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен костимулирующей

молекулы (например, Т-клеточной костимулирующей молекулы), например, между трансмембранным доменом и внутриклеточным сигнальным доменом. В некоторых аспектах Т-клеточная костимулирующая молекула представляет собой CD28 или 4-1BB.

[0267] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен рецептора (например, CAR) представляет собой трансмембранный домен CD28 человека или его вариант, например, 27-аминокислотный трансмембранный домен CD28 человека (регистрационный № P10747.1). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен CD28 человека или его функциональный вариант, такой как его 41-аминокислотный домен и/или такой домен с заменой LL на GG в положениях 186-187 природного белка CD28. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен 4-1BB или его функциональный вариант, такой как 42-аминокислотный цитоплазматический домен 4-1BB человека (регистрационный № Q07011.1). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит стимулирующий сигнальный домен CD3-дзета человека, или его функциональный вариант, такой как 112-ак цитоплазматический домен изоформы 3 CD3 $\zeta$  человека (регистрационный № P20963.2), или сигнальный домен CD3-дзета, описанный в патенте США № 7446190.

[0268] Например, в некоторых вариантах осуществления CAR содержит анти-BCMA антитело, или фрагмент, например, любое из антител против человеческого BCMA, включая одАт и scFv, описанные в настоящем документе, спейсер, например, любой из спейсеров, содержащих шарнир Ig, трансмембранный домен CD28, внутриклеточный сигнальный домен CD28 и сигнальный домен CD3-дзета. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит анти-BCMA антитело, или фрагмент, например, любое из антител против человеческого BCMA, включая одАт и scFv, описанные в настоящем документе, спейсер, например, любой из спейсеров, содержащих шарнир Ig, трансмембранный домен CD28, внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB и сигнальный домен CD3-дзета. В некоторых вариантах осуществления такие конструкции CAR дополнительно содержат элемент проскока рибосомы T2A и/или последовательность tEGFR, например, ниже по ходу транскрипции от CAR.

[0269] В конкретных вариантах осуществления мультиспецифические связывающие молекулы, например, мультиспецифические химерные рецепторы, такие как мультиспецифические CAR, могут содержать любые из мультиспецифических антител, включая, например, биспецифические антитела, мультиспецифические одноцепочечные антитела, например, диатела, триатела и тетратела, тандемные ди-scFv и тандемные три-scFv, такие как любые из описанных выше в разделе I.A.

## **В. Иллюстративные признаки**

[0270] В некоторых аспектах антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, в предложенных CAR имеют один или более конкретных функциональных признаков, таких как свойства связывания, включая узнавание или связывание с конкретными эпитопами,

например, с эпитопами, которые похожи, или перекрываются, с эпитопами, специфически связываемыми другими антителами, такими как эталонные антитела, или эпитопы, которые отличаются от эпитопов, специфически связываемых другими антителами, такими как эталонные антитела, способность конкурировать за связывание с другими антителами, такими как эталонные антитела, и/или конкретные аффинности связывания. В других вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, в предложенных CAR, узнают, например, специфически узнают или связывают, например, специфически связывают, эпитопы, которые отличаются или не перекрываются с теми, которые специфически связываются другими антителами, такими как эталонные антитела. Например, эпитопы, специфически связываемые антителами в предложенных CAR, отличаются от эпитопов, специфически связываемых другими антителами, такими как эталонные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела и их антигенсвязывающие фрагменты непосредственно не конкурируют, или конкурируют в меньшей степени, за связывание с другими антителами, такими как эталонные антитела.

[0271] В некоторых вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, специфически узнают или специфически связывают белок ВСМА. В любом из вариантов осуществления антитела, или антигенсвязывающий фрагмент, в предложенных CAR, которое специфически узнает ВСМА, специфически связывает ВСМА. В некоторых вариантах осуществления, предложенных в настоящем документе, белок ВСМА представляет собой белок ВСМА человека, белок ВСМА мыши или белок ВСМА примата (например, яванского макака). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения белок ВСМА представляет собой белок ВСМА человека. Тот факт, что антитело, или другая связывающая молекула, связывает белок ВСМА, или специфически связывает белок ВСМА, не обязательно означает, что оно связывает белок ВСМА каждого биологического вида. Например, в некоторых вариантах осуществления признаки связывания белка ВСМА, например, способность специфически связывать его и/или конкурировать за связывание с ним с эталонным антителом, и/или связывать с конкретной аффинностью, или конкурировать в определенной степени, в некоторых вариантах осуществления означает способность применительно к человеческому белку ВСМА, и антитело может не обладать таким признаком в отношении белка ВСМА другого биологического вида, например, мыши.

[0272] В некоторых вариантах осуществления антитела, или антигенсвязывающий фрагмент, связывает белок ВСМА млекопитающего, включая природные варианты ВСМА, такие как некоторые сплайс-варианты или аллельные варианты.

[0273] В некоторых вариантах осуществления антитела специфически связывают человеческий белок ВСМА, например, эпитоп или область человеческого белка ВСМА, такого как человеческий белок ВСМА, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367 (GenBank № BAB60895.1) или SEQ ID NO: 368 (NCBI № NP\_001183.2), или его аллельный вариант или сплайс-вариант. В одном варианте осуществления человеческий белок ВСМА закодирован транскрипционным вариантом, или представляет

собой изоформу, которая имеет аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 369. В некоторых вариантах осуществления антитела связывают белок ВСМА яванского макака, такой как белок ВСМА яванского макака с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 371 (GenBank № EHH60172.1). В некоторых вариантах осуществления антитела связывают человеческий ВСМА, но не связывают, или связывают на более низком уровне или с более низкой аффинностью, белок ВСМА яванского макака, такой как белок ВСМА яванского макака с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 371 (GenBank № EHH60172.1). В некоторых вариантах осуществления антитела не связывают, или связывают на более низком уровне или в более низкой степени, или с более низкой аффинностью, мышинный белок ВСМА, такой как мышинный белок ВСМА с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 370 (NCBI № NP\_035738.1). В некоторых вариантах осуществления антитела связывают мышинный белок ВСМА, такой как мышинный белок ВСМА с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 370 (NCBI № NP\_035738.1). В некоторых вариантах осуществления антитела связывают мышинный белок ВСМА с более низкой аффинностью, чем человеческий белок ВСМА и/или белок ВСМА яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитела связывают мышинный белок ВСМА и/или белок ВСМА яванского макака с более низкой аффинностью, чем человеческий белок ВСМА. В некоторых вариантах осуществления антитела связывают мышинный белок ВСМА и/или белок ВСМА яванского макака с аналогичной аффинностью связывания в сравнении с аффинностью связывания человеческого белка ВСМА.

[0274] В некоторых вариантах осуществления предложенный антигенсвязывающий домен или CAR демонстрирует предпочтительное связывание со связанным с мембраной ВСМА, в сравнении с растворимым ВСМА. В некоторых вариантах осуществления предложенный антигенсвязывающий домен или CAR проявляет большую аффинность связывания в отношении связанного с мембраной ВСМА, чем растворимого ВСМА.

[0275] В одном варианте осуществления степень связывания анти-ВСМА антитела или антигенсвязывающего домена, или CAR, с посторонним, не-ВСМА белком, таким как не принадлежащий человеку белок ВСМА или другой не-ВСМА белок, составляет менее чем, или менее чем примерно 10% от связывания антитела или антигенсвязывающего домена, или CAR с человеческим белком ВСМА или человеческим связанным с мембраной ВСМА, при измерении, например, в радиоиммунном анализе (RIA). В некоторых вариантах осуществления в число антител, или антигенсвязывающих доменов, в предложенных CAR входят антитела, или антигенсвязывающие домены, или CAR, связывание которых с мышинным белком ВСМА составляет менее чем, или составляет, или составляет примерно 10% от связывания антитела с человеческим белком ВСМА. В некоторых вариантах осуществления в число антител, или антигенсвязывающих доменов, в предложенных CAR входят антитела, связывание которых с белком ВСМА яванского макака составляет менее чем, или составляет, или составляет примерно 10% от связывания антитела с человеческим белком ВСМА. В некоторых вариантах осуществления в число антител, или антигенсвязывающих доменов, в предложенных CAR входят антитела, связывание которых

с белком ВСМА яванского макака и/или мышинным белком ВСМА является аналогичным или примерно таким же, как связывание антитела с человеческим белком ВСМА. В некоторых вариантах осуществления в число антител, или антигенсвязывающих доменов, в предложенных CAR входят антитела или антигенсвязывающие домены, или CAR, связывание которых с растворимым белком ВСМА составляет менее чем, или составляет, или составляет примерно 10% от связывания антитела со связанным с мембраной белком ВСМА.

[0276] В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывает и/или конкурирует за связывание с ним, с эталонным антителом, и/или связывает с конкретной аффинностью, или конкурирует в определенной степени за связывание с белком ВСМА, например, белком ВСМА человека, белком ВСМА мыши или белком ВСМА примата (например, яванского макака).

[0277] В некоторых вариантах осуществления антитела в предложенных CAR способны связывать белок ВСМА, такой как человеческий белок ВСМА, по меньшей мере с определенной аффинностью, при измерении любым из целого ряда известных методов. В некоторых вариантах осуществления аффинность представлена равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ); в некоторых вариантах осуществления аффинность представлена  $EC_{50}$ .

[0278] Известны различные анализы для оценки аффинности связывания и/или определения того, связывает ли специфически связывающая молекула (например, антитело или его фрагмент) конкретный лиганд (например, антиген, такой как белок ВСМА). Определение аффинности связывания связывающей молекулы, например, антитела, в отношении антигена, например, ВСМА, такого как ВСМА человека или ВСМА яванского макака, или ВСМА мыши, находится в пределах компетентности квалифицированного специалиста, например, с использованием любого из ряда анализов связывания, которые хорошо известны в данной области. Например, в некоторых вариантах осуществления можно использовать прибор VIAcore® для определения кинетики связывания и констант для комплекса между двумя белками (например, антителом или его фрагментом и антигеном, таким как белок ВСМА) методом поверхностного плазмонного резонанса (ППР) (смотри, например, Scatchard *et al.*, Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660, 1949; Wilson, Science 295:2103, 2002; Wolff *et al.*, Cancer Res. 53:2560, 1993; и патенты США №№ 5283173, 5468614, или эквиваленты).

[0279] ППР позволяет определять изменения концентрации молекул на поверхности сенсора при связывании или диссоциации молекул с поверхности. Изменение сигнала ППР прямо пропорционально изменению массовой концентрации вблизи поверхности, что позволяет измерять кинетику связывания между двумя молекулами. Константу диссоциации для комплекса можно определять путем мониторинга изменений показателя преломления относительно времени протекания буфера через чип. Другие подходящие анализы определения связывания одного белка с другим включают, например, иммуноанализы, такие как твердофазные иммуноферментные анализы (ELISA) и радиоиммунные анализы (RIA), или определение связывания путем мониторинга

изменений спектроскопических или оптических свойств белков с использованием флуоресценции, УФ-поглощения, кругового дихроизма или ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Другие иллюстративные анализы включают, но без ограничения, вестерн-блоттинг, ELISA, аналитическое ультрацентрифугирование, спектроскопию, проточную цитометрию, секвенирование и другие методы обнаружения экспрессированных полинуклеотидов или связывания белков.

[0280] В некоторых вариантах осуществления связывающая молекула, например, антитело, или его фрагмент, или антигенсвязывающий домен CAR, связывает, например, специфически связывает, антиген, например, белок ВСМА или его эпитоп, с аффинностью или  $K_A$  (то есть, равновесной константой связывания в конкретном взаимодействии связывания, выраженной в единицах  $1/M$ ; равной отношению константы скорости ассоциации [ $k_{on}$  или  $k_a$ ] к константе скорости диссоциации [ $k_{off}$  или  $k_d$ ] для данной реакции связывания, при условии бимолекулярного взаимодействия), равной или превышающей  $10^5 M^{-1}$ . В некоторых вариантах осуществления антитело, или его фрагмент, или антигенсвязывающий домен CAR имеет аффинность связывания для пептидного эпитопа с  $K_D$  (то есть, равновесной константой диссоциации в конкретном взаимодействии связывания, выраженной в единицах  $M$ ; равной отношению константы скорости диссоциации [ $k_{off}$  или  $k_d$ ] к константе скорости ассоциации [ $k_{on}$  или  $k_a$ ] для данной реакции связывания, при условии бимолекулярного взаимодействия), равной или меньшей чем  $10^{-5} M$ . Например, равновесная константа диссоциации  $K_D$  находится в диапазоне от  $10^{-5} M$  до  $10^{-13} M$ , например, от  $10^{-7} M$  до  $10^{-11} M$ , от  $10^{-8} M$  до  $10^{-10} M$  или от  $10^{-9} M$  до  $10^{-10} M$ . Константу скорости ассоциации ( $k_{on}$  или  $k_a$ ; выраженную в единицах  $1/Mc$ ) и константу скорости диссоциации ( $k_{off}$  или  $k_d$ ; выраженную в единицах  $1/c$ ) можно определять с использованием любых аналитических методов, известных в данной области, например, поверхностного плазмонного резонанса (ППР).

[0281] В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания ( $EC_{50}$ ) и/или константа диссоциации антитела (например, антигенсвязывающего фрагмента) или антигенсвязывающего домена CAR с белком ВСМА, таким как человеческий белок ВСМА, составляет от или от примерно  $0,01$  нМ до примерно  $500$  нМ, от или от примерно  $0,01$  нМ до примерно  $400$  нМ, от или от примерно  $0,01$  нМ до примерно  $100$  нМ, от или от примерно  $0,01$  нМ до примерно  $50$  нМ, от или от примерно  $0,01$  нМ до примерно  $10$  нМ, от или от примерно  $0,01$  нМ до примерно  $1$  нМ, от или от примерно  $0,01$  нМ до примерно  $0,1$  нМ, составляет от или от примерно  $0,1$  нМ до примерно  $500$  нМ, от или от примерно  $0,1$  нМ до примерно  $400$  нМ, от или от примерно  $0,1$  нМ до примерно  $100$  нМ, от или от примерно  $0,1$  нМ до примерно  $50$  нМ, от или от примерно  $0,1$  нМ до примерно  $10$  нМ, от или от примерно  $0,1$  нМ до примерно  $1$  нМ, от или от примерно  $0,5$  нМ до примерно  $200$  нМ, от или от примерно  $1$  нМ до примерно  $500$  нМ, от или от примерно  $1$  нМ до примерно  $100$  нМ, от или от примерно  $1$  нМ до примерно  $50$  нМ, от или от примерно  $1$  нМ до примерно  $10$  нМ, от или от примерно  $2$  нМ до примерно  $50$  нМ, от или от примерно  $10$  нМ до примерно  $500$  нМ, от или от примерно  $10$  нМ до примерно  $100$  нМ, от или от примерно  $10$  нМ до примерно  $50$

нМ, от или от примерно 50 нМ до примерно 500 нМ, от или от примерно 50 нМ до примерно 100 нМ, или от или от примерно 100 нМ до примерно 500 нМ. В конкретных вариантах осуществления аффинность связывания ( $EC_{50}$ ) и/или равновесная константа диссоциации,  $K_D$ , антитела с белком ВСМА, таким как человеческий белок ВСМА, составляет, или менее чем, или составляет примерно 400 нМ, 300 нМ, 200 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, или менее. В некоторых вариантах осуществления антитела связывают белок ВСМА, такой как человеческий белок ВСМА, с аффинностью связывания в субнаномолярном диапазоне, например, с аффинностью связывания менее чем примерно 1 нМ, например, менее чем примерно 0,9 нМ, примерно 0,8 нМ, примерно 0,7 нМ, примерно 0,6 нМ, примерно 0,5 нМ, примерно 0,4 нМ, примерно 0,3 нМ, примерно 0,2 нМ или примерно 0,1 нМ, или менее.

[0282] В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания можно классифицировать как высокую аффинность или как низкую аффинность. В некоторых случаях связывающая молекула (например, антитело, или его фрагмент), или антигенсвязывающий домен CAR, проявляющая низкую или умеренную аффинность связывания, имеет  $K_A$  вплоть до  $10^7 M^{-1}$ , вплоть до  $10^6 M^{-1}$ , вплоть до  $10^5 M^{-1}$ . В некоторых случаях связывающая молекула (например, антитело, или его фрагмент), проявляющая высокую аффинность связывания в отношении конкретного эпитопа, взаимодействует с таким эпитопом с  $K_A$  по меньшей мере  $10^7 M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^8 M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^9 M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^{10} M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^{11} M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^{12} M^{-1}$  или по меньшей мере  $10^{13} M^{-1}$ . В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания ( $EC_{50}$ ) и/или равновесная константа диссоциации,  $K_D$ , связывающей молекулы, например, анти-ВСМА антитела, или его фрагмента, или антигенсвязывающего домена CAR, в отношении белка ВСМА составляет от или от примерно 0,01 нМ до примерно 1 мкм, 0,1 нМ - 1 мкм, 1 нМ - 1 мкм, 1 нМ - 500 нМ, 1 нМ - 100 нМ, 1 нМ - 50 нМ, 1 нМ - 10 нМ, 10 нМ - 500 нМ, 10 нМ - 100 нМ, 10 нМ - 50 нМ, 50 нМ - 500 нМ, 50 нМ - 100 нМ или 100 нМ - 500 нМ. В конкретных вариантах осуществления аффинность связывания ( $EC_{50}$ ) и/или равновесная константа диссоциации,  $K_D$ , связывающей молекулы, например, анти-ВСМА антитела, или его фрагмента, или антигенсвязывающего домена CAR, в отношении белка ВСМА составляет или составляет примерно, или составляет менее или менее примерно 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, или менее. Степень аффинности конкретного антитела можно сравнивать с аффинностью известного антитела, такого как эталонное антитело.

[0283] В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания связывающей молекулы, такой как анти-ВСМА антитело или антигенсвязывающий домен CAR, в отношении других антигенов, например, белков ВСМА от других биологических видов, можно сравнивать для определения видовой перекрестной реактивности. Например, видовую перекрестную реактивность можно классифицировать как высокую перекрестную

реактивность или низкую перекрестную реактивность. В некоторых вариантах осуществления равновесные константы диссоциации,  $K_D$ , в отношении разных антигенов, например, белков ВСМА от разных биологических видов, таких как человек, яванский макак или мышь, можно сравнивать для определения видовой перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления видовая перекрестная реактивность анти-ВСМА антитела или антигенсвязывающего домена CAR может быть высокой, например, анти-ВСМА антитело связывает ВСМА человека и вариант ВСМА другого биологического вида в сходной степени, например, отношение  $K_D$  для ВСМА человека и  $K_D$  для варианта ВСМА другого биологического вида составляет или составляет примерно 1. В некоторых вариантах осуществления видовая перекрестная реактивность анти-ВСМА антитела или антигенсвязывающего домена CAR может быть низкой, например, анти-ВСМА антитело имеет высокую аффинность для ВСМА человека, но низкую аффинность для варианта ВСМА другого биологического вида, или наоборот. Например, отношение  $K_D$  для варианта ВСМА другого биологического вида и  $K_D$  для ВСМА человека составляет более 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000, или более, и анти-ВСМА антитело имеет низкую видовую перекрестную реактивность. Степень видовой перекрестной реактивности можно сравнивать с видовой перекрестной реактивностью известного антитела, такого как эталонное антитело.

[0284] В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания анти-ВСМА антитела или антигенсвязывающего домена CAR для антигенов другой формы или другого топологического типа, например, растворимого белка ВСМА, можно сравнивать с аффинностью связывания для связанного с мембраной ВСМА, для определения предпочтительного связывания или относительной аффинности для конкретной формы или топологического типа. Например, в некоторых аспектах предложенные анти-ВСМА антитела или антигенсвязывающие домены могут демонстрировать предпочтительное связывание для связанного с мембраной ВСМА в сравнении с растворимым ВСМА, и/или проявлять большую аффинность связывания для связанного с мембраной ВСМА в сравнении с растворимым ВСМА. В некоторых вариантах осуществления равновесные константы диссоциации,  $K_D$ , для разных форм или топологических типов белков ВСМА можно сравнивать для определения предпочтительного связывания или относительной аффинности связывания. В некоторых вариантах осуществления предпочтительное связывание или относительная аффинность для связанного с мембраной ВСМА, в сравнении с растворимым ВСМА, могут быть высокими. Например, в некоторых случаях отношение  $K_D$  для растворимого ВСМА к  $K_D$  для связанного с мембраной ВСМА составляет более 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000, или более, и антитело или антигенсвязывающий домен предпочтительно связывает, или имеет более высокую аффинность связывания для связанного с мембраной ВСМА. В некоторых случаях отношение  $K_A$  для связанного с мембраной ВСМА к  $K_A$  для растворимого ВСМА составляет более 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 1000, 2000, или более, и антитело или антигенсвязывающий домен предпочтительно связывает, или имеет более

высокую аффинность связывания для связанного с мембраной ВСМА. В некоторых случаях антитело или антигенсвязывающий домен CAR связывает растворимый ВСМА и связанный с мембраной ВСМА в сходной степени, например, отношение  $K_D$  для растворимого ВСМА к  $K_D$  для связанного с мембраной ВСМА составляет или составляет примерно 1. В некоторых случаях антитело или антигенсвязывающий домен CAR связывает растворимый ВСМА и связанный с мембраной ВСМА в сходной степени, например, отношение  $K_A$  для растворимого ВСМА к  $K_A$  для связанного с мембраной ВСМА составляет или составляет примерно 1. Степени предпочтительного связывания или относительной аффинности для связанного с мембраной ВСМА или растворимого ВСМА можно сравнивать с таковыми для известного антитела, такого как эталонное антитело.

[0285] В некоторых вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, в предложенных CAR связывают в аналогичной степени человеческий белок ВСМА и не принадлежащий человеку белок ВСМА или другие не-ВСМА белки. Например, в некоторых вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, или антигенсвязывающий домен CAR связывает человеческий белок ВСМА, такой как человеческий белок ВСМА, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367 (GenBank № BAB60895.1) или SEQ ID NO: 368 (NCBI № NP\_001183.2), или его аллельный вариант или сплайс-вариант, с некоторой равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), и не принадлежащий человеку ВСМА, такой как ВСМА яванского макака, например, белок ВСМА яванского макака с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 371 (GenBank № EHH60172.1), с величиной  $K_D$ , которая аналогична или примерно равна, или менее чем в 2 раза отличается, или менее чем в 5 раз отличается.

[0286] В некоторых вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, в предложенных CAR связывают в аналогичной степени растворимый белок ВСМА и связанный с мембраной белок ВСМА, с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), которая аналогична или примерно равна, или менее чем в 2 раза отличается, или менее чем в 5 раз отличается.

[0287] Например, в некоторых вариантах осуществления антитела в предложенных CAR, или их антигенсвязывающие фрагменты, связывают ВСМА человека с  $K_D$ , составляющей примерно, или менее чем, или менее чем примерно 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, или менее, и связывают ВСМА яванского макака с  $K_D$ , составляющей примерно, или менее чем, или менее чем примерно 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, или менее. В некоторых вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, связывают белок ВСМА мыши с  $K_D$ , составляющей примерно, или менее чем, или менее чем примерно 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12

нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, или менее. В некоторых вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, в предложенных CAR связывают ВСМА человека, ВСМА яванского макака и ВСМА мыши с высокой аффинностью. В некоторых вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, связывают ВСМА человека и ВСМА яванского макака с высокой аффинностью, и ВСМА мыши с низкой аффинностью. В некоторых вариантах осуществления антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, связывают ВСМА человека и ВСМА других биологических видов, или другие варианты белка ВСМА, с высокой аффинностью.

[0288] В некоторых вариантах осуществления общую связывающую способность ( $R_{\max}$ ), измеренную в конкретных условиях поверхностного плазмонного резонанса (ППР), используют для определения возможности или способности связывания антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, с антигеном, например, белком ВСМА, таким как человеческий белок ВСМА. Для анализа ППР «лиганд» представляет собой иммобилизованную молекулу-мишень на поверхности сенсора, например, белок ВСМА, и «аналит» представляет собой молекулу, например, антитело, тестируемую на связывание с «лигандом». Например, «аналит» может представлять собой любое из антител, или их антигенсвязывающих фрагментов, которое связывает белок ВСМА. Для конкретной пары лиганда и аналита в ППР величину  $R_{\max}$  можно определять, предполагая стехиометрическую модель связывания 1:1, для конкретного условия. Связывающую способность ( $R_{\max}$ ) определяли с использованием следующей формулы:  $R_{\max} (PE) = (\text{молекулярная масса аналита})/(\text{молекулярная масса лиганда}) \times \text{уровень иммобилизованного лиганда (PE)}$ . Например, в конкретных условиях ППР  $R_{\max}$  связывания между любым из антител, или его антигенсвязывающим фрагментом, и белком ВСМА, таким как ВСМА человека или ВСМА яванского макака, составляет по меньшей мере или по меньшей мере примерно 50 резонансных единиц (PE), например, примерно 25 PE, 20 PE, 15 PE, 10 PE, 5 PE или 1 PE.

[0289] В некоторых вариантах осуществления антитела, такие как человеческие антитела в предложенных CAR, специфически связывают конкретный эпитоп или область белка ВСМА, например, как правило, внеклеточный эпитоп или область. Белок ВСМА представляет собой мембранный белок III типа из 184 аминокислот, который содержит внеклеточный домен, трансмембранный домен и цитоплазматический домен. Применительно к человеческому ВСМА с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 367, внеклеточный домен соответствует аминокислотам 1-54, аминокислоты 55-77 соответствуют трансмембранному домену, и аминокислоты 78-184 соответствуют цитоплазматическому домену.

[0290] В число предложенных CAR входят CAR, проявляющие антиген-зависимую активность или сигнализацию, то есть активность сигнализации, которая в значительной степени отсутствует или находится на фоновых уровнях в отсутствие антигена, например, ВСМА. Таким образом, в некоторых аспектах предложенные CAR не проявляют, или

проявляют не более чем фоновую, или удовлетворительную, или на низком уровне, тоническую сигнализацию, или антиген-независимую активность или сигнализацию, в отсутствие антигена, например, ВСМА. В некоторых вариантах осуществления предложенные анти-ВСМА CAR-экспрессирующие клетки проявляют биологическую активность или функцию, включая цитотоксическую активность, продуцирование цитокинов и способность к пролиферации.

[0291] В некоторых вариантах осуществления биологическую активность или функциональную активность химерного рецептора, например, цитотоксическую активность, можно измерять с использованием любого из целого ряда известных методов. Активность можно оценивать или определять либо *in vitro*, либо *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления активность можно оценивать после введения клеток субъекту (например, человеку). Параметры для оценки включают специфическое связывание генетически модифицированных или природных Т-клеток или других иммунных клеток с антигеном, например, *in vivo*, например, при помощи визуализации, или *ex vivo*, например, методом ELISA или проточной цитометрии. В конкретных вариантах осуществления способность генетически модифицированных клеток уничтожать клетки-мишени можно определять с использованием любого подходящего метода, известного в данной области, например, в анализе цитотоксичности, описанном, например, в Kochenderfer *et al.*, J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009), и Herman *et al.* J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004). В конкретных вариантах осуществления биологическую активность клеток также можно определять путем оценки экспрессии и/или секреции определенных цитокинов, таких как интерлейкин 2 (IL-2), интерферон-гамма (IFN $\gamma$ ), интерлейкин 4 (IL-4), TNF-альфа (TNF $\alpha$ ) интерлейкин 6 (IL-6), интерлейкин 10 (IL-10), интерлейкин 12 (IL-12), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), CD107a и/или TGF-бета (TGF $\beta$ ). Анализы для определения цитокинов хорошо известны в данной области и включают, но не ограничиваются ими, ELISA, внутриклеточное окрашивание цитокинов, цитометрический анализ на гранулах, ОТ-ПЦР, ELISPOT, проточную цитометрию и биоанализы, в которых клетки, реагирующие на соответствующий цитокин, тестируют на ответную реакцию (например, пролиферацию) в присутствии тестируемого образца. В некоторых аспектах биологическую активность измеряют путем оценки клинического результата, такого как уменьшение опухолевой нагрузки или бремени.

[0292] В некоторых аспектах можно использовать линию клеток-репортеров для контролирования антиген-независимой активности и/или тонической сигнализации анти-ВСМА в CAR-экспрессирующих клетках. В некоторых вариантах осуществления линейные Т-клетки, такие как клетки линии Jurkat, содержат молекулу-репортер, такую как флуоресцентный белок, или другую поддающуюся определению молекулу, такую как красный флуоресцентный белок, экспрессируемую под контролем эндогенных регуляторных элементов транскрипции Nur77. В некоторых вариантах осуществления экспрессия репортера Nur77 присуща клеткам и зависит от сигнализации через рекомбинантный рецептор, включающий основной сигнал активации в Т-клетке,

компонент сигнального домена Т-клеточного рецептора (TCR) и/или сигнальный домен, содержащий иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM), такой как цепь CD3 $\zeta$ . На экспрессию Nur77, как правило, не влияют другие пути сигнализации, такие как сигнализация через цитокины или сигнализация через toll-подобный рецептор (TLR), которые могут действовать внешним образом и могут не зависеть от сигнализации через рекомбинантный рецептор. Таким образом, только клетки, которые экспрессируют экзогенный рекомбинантный рецептор, например, анти-BCMA CAR, содержащий соответствующие сигнальные области, способны экспрессировать Nur77 при стимуляции (например, связывании специфического антигена). В некоторых случаях экспрессия Nur77 также может демонстрировать зависимый от дозы ответ на количество стимула (например, антигена).

[0293] В некоторых вариантах осуществления предложенные анти-BCMA CAR демонстрируют повышенную экспрессию на поверхности клеток, например, в сравнении с альтернативным CAR, который имеет идентичную аминокислотную последовательность, но который закодирован нуклеотидной последовательностью с не удаленными сайтами сплайсинга и/или без кодон-оптимизации. В некоторых вариантах осуществления экспрессию рекомбинантного рецептора на поверхности клетки можно оценивать. Подходы к определению экспрессии рекомбинантного рецептора на поверхности клетки могут включать использование специфических для химерного антигенного рецептора (CAR) антител (например, Brentjens *et al.*, *Sci. Transl. Med.* 2013 Mar; 5(177): 177ra38), белка L (Zheng *et al.*, *J. Transl. Med.* 2012 Feb; 10:29), эпитопных маркеров и моноклональных антител, которые специфически связывают полипептид CAR (смотри публикацию международной патентной заявки № WO2014190273). В некоторых вариантах осуществления экспрессию рекомбинантного рецептора на поверхности клетки, например, первичной Т-клетки, можно оценивать, например, методом проточной цитометрии, с использованием связывающих молекул, способных связывать рекомбинантный рецептор или его фрагмент, которые могут быть обнаружены. В некоторых вариантах осуществления связывающие молекулы, используемые для определения экспрессии рекомбинантного рецептора, представляют собой антиидиотипическое антитело, например, антиидиотипическое агонистическое антитело, специфическое для связывающего домена, например, scFv или его фрагмента. В некоторых вариантах осуществления связывающая молекула представляет собой или содержит выделенный или очищенный антиген, например, рекомбинантно экспрессируемый антиген.

### **С. Мультиспецифические антитела**

[0294] В конкретных вариантах осуществления BCMA-связывающие молекулы, например, антитела или полипептиды, например, содержащие их химерные рецепторы, являются мультиспецифическими. В число мультиспецифических связывающих молекул входят мультиспецифические антитела, включая, например, биспецифические антитела. Мультиспецифические связывающие партнеры, например, антитела, имеют специфичности связывания для по меньшей мере двух разных сайтов, которые могут находиться на одном

и том же или на разных антигенах. В конкретных вариантах осуществления одна из специфичностей связывания является специфичностью для ВСМА, и другая - для другого антигена. В некоторых вариантах осуществления дополнительные связывающие молекулы связывают и/или узнают третий, или большее количество антигенов. В конкретных вариантах осуществления биспецифические антитела могут связывать два разных эпитопа ВСМА. Биспецифические антитела также могут быть использованы для локализации цитотоксических средств на клетках, экспрессирующих ВСМА. Биспецифические антитела могут быть получены в виде полноразмерных антител или фрагментов антител. В число мультиспецифических антител входят мультиспецифические одноцепочечные антитела, например, диатела, триатела и тетратела, тандемные ди-scFv и тандемные три-scFv. Также предложены мультиспецифические химерные рецепторы, такие как мультиспецифические CAR, содержащие антитела (например, антигенсвязывающие фрагменты). Также предложены мультиспецифические клетки, содержащие антитела или полипептиды, включающие их, например, клетки, содержащие клеточный поверхностный белок, включающий анти-ВСМА антитело, и дополнительный клеточный поверхностный белок, такой как дополнительный химерный рецептор, который связывает иной антиген или иной эпитоп на ВСМА.

[0295] Иллюстративные антигены включают В-клеточные специфические антигены, другие опухоль-специфические антигены, например, антигены, специфически экспрессируемые, или связанные с клетками лейкоза (например, В-клеточного лейкоза), лимфомы (например, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы и так далее) или миеломы, например, множественной миеломы (ММ), злокачественного новообразования из плазматических клеток (например, плазмцитомы). Например, антигены включают антигены, специфически экспрессируемые, или связанные с клетками В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), острого миелоидного лейкоза (AML), острого лимфоцитарного лейкоза (ALL), лимфомы Беркитта (например, эндемической лимфомы Беркитта или спорадической лимфомы Беркитта), лимфомы из клеток мантийной зоны (MCL), немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), хронического миелоидного (или миелогенного) лейкоза (CML), волосатоклеточного лейкоза (HCL), мелколимфоцитарной лимфомы (SLL), лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы Ходжкина (HL), неходжкинской лимфомы (NHL), анапластической крупноклеточной лимфомы (ALCL), рефрактерной фолликулярной лимфомы, макроглобулинемии Вальденстрема, фолликулярной лимфомы, мелкоклеточной лимфомы с нерассеченными ядрами, лимфомы лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), лимфомы из клеток маргинальной зоны, узелковой моноцитойдной В-клеточной лимфомы, иммунобластной лимфомы, крупноклеточной лимфомы, диффузной смешанно-клеточной лимфомы, легочной В-клеточной лимфангиомы, мелколимфоцитарной лимфомы, первичной медиастинальной В-клеточной лимфомы, лимфоплазматической лимфомы (LPL), нейробластомы, почечноклеточного рака, рака толстого кишечника, колоректального рака, рака молочной железы, эпителиального плоскоклеточного рака,

меланомы, миеломы, такой как множественная миелома (например, несекретирующая множественная миелома, вялотекущая множественная миелома), рака желудка, рака пищевода, рака головного мозга, рака легкого (например, мелкоклеточного рака легкого), рака поджелудочной железы, рака шейки матки, рака яичника, рака печени (например, печеночной карциномы, гепатомы и так далее), рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака яичка, рака щитовидной железы, рака тела матки, рака селезенки (например, лимфомы маргинальной зоны селезенки), рака надпочечников и/или рака головы и шеи, а также антигены, экспрессируемые на Т-клетках.

[0296] В некоторых вариантах осуществления в число вторичных или дополнительных антигенов для стратегии множественного нацеливания входят антигены, среди которых по меньшей мере один из антигенов является универсальным опухолевым антигеном, или представителем этого семейства. В некоторых вариантах осуществления вторичный или дополнительный антиген представляет собой антиген, экспрессируемый на опухоли. В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающие молекулы, предложенные в настоящем документе, нацелены на антиген на опухоли того же типа, что и вторичный или дополнительный антиген. В некоторых вариантах осуществления вторичный или дополнительный антиген также может представлять собой универсальный опухолевый антиген или может представлять собой опухолевый антиген, специфический для определенного типа опухоли.

[0297] Иллюстративные вторичные или дополнительные антигены включают CD4, CD5, CD8, CD14, CD15, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD33, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD46, CD52, CD54, CD74, CD80, CD126, CD138, B7, MUC-1, Ia, HM1,24, HLA-DR, тенасцин, фактор ангиогенеза, VEGF, PIGF, ED-B фибронектин, онкоген, продукт онкогена, CD66a-d, характерные для некроза антигены, Ii, IL-2, T101, TAC, IL-6, ROR1, TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), tEGFR, Her2, L1-CAM, мезотелин, CEA, поверхностный антиген вируса гепатита В, антифолатный рецептор, CD24, CD30, CD44, EGFR, EGP-2, EGP-4, ERHa2, ErbB2, ErbB3, ErbB4, димеры erbB, EGFR vIII, FBP, FCRL5, FCRH5, эмбриональный ацетилхолиновый рецептор, GD2, GD3, представитель D класса C группы 5 связанных с G-белками рецепторов (GPCR5D), HMW-MAA, IL-22R-альфа, IL-13R-альфа2, kdr, легкую цепь каппа, Lewis Y, L1-молекулу клеточной адгезии (L1-CAM), меланома-ассоциированный антиген (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), сурвивин, EGP2, EGP40, TAG72, B7-H6, IL-13 рецептор  $\alpha 2$  (IL-13Ra2), CA9, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE A1, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, фолатный рецептор  $\alpha$ , CD44v6, CD44v7/8, интегрин  $\alpha v\beta 6$ , 8H9, NCAM, рецепторы VEGF, 5T4, эмбриональный AchR, лиганды NKG2D, двойной антиген, антиген, связанный с универсальным маркером, раково-тестикулярный антиген, MUC1, MUC16, NY-ESO-1, MART-1, gp100, онкоэмбриональный антиген, VEGF-R2, карциноэмбриональный антиген (CEA), простатический специфический антиген, PSMA, Her2/neu, рецептор эстрогена, рецептор прогестерона, эфрин B2, CD123, c-Met, GD-2, O-ацетилированный GD2 (OGD2), CE7, антиген опухоли Вильмса 1 (WT-1), циклин, циклин A2, CCL-1, hTERT, MDM2,

CYP1B, WT1, ливин, AFP, p53, циклин (D1), CS-1, BAFF-R, TACI, CD56, TIM-3, CD123, L1-молекулу клеточной адгезии, MAGE-A1, MAGE A3, циклин, такой как циклин A1 (CCNA1), и/или специфический для патогена антиген, биотинилированные молекулы, молекулы, экспрессируемые HIV, HCV, HBV и/или другими патогенами, и/или в некоторых аспектах их неопитопы или неоантигены. В некоторых вариантах осуществления антиген связан с, или представляет собой универсальный маркер.

[0298] В некоторых аспектах антиген, например, вторичный или дополнительный антиген, такой как специфический для заболевания антиген и/или связанный с заболеванием антиген, экспрессируется на клетках множественной миеломы, например, представитель D класса C группы 5 связанных с G-белками рецепторов (GPCR5D), CD38 (гидролаза циклической АДФ-рибозы), CD138 (синдекан-1, синдекан, SYN-1), CS-1 (CS1, CD2 подгруппы 1, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24), BAFF-R, TACI и/или FcRH5. Другие иллюстративные антигены множественной миеломы включают CD56, TIM-3, CD33, CD123, CD44, CD20, CD40, CD74, CD200, EGFR,  $\beta$ 2-микроглобулин, HM1,24, IGF-1R, IL-6R, TRAIL-R1 и рецептор активина типа IIA (ActRIIA). Смотри Benson and Byrd, *J. Clin. Oncol.* (2012) 30(16): 2013-15; Tao and Anderson, *Bone Marrow Research* (2011):924058; Chu *et al.*, *Leukemia* (2013) 28(4):917-27; Garfall *et al.*, *Discov Med.* (2014) 17(91):37-46. В некоторых вариантах осуществления антигены включают антигены, присутствующие на клетках лимфоидных опухолей, миеломы, СПИД-ассоциированной лимфомы и/или связанные с пост-трансплантационными лимфопролиферативными заболеваниями, например, CD38. Антитела, или антигенсвязывающие фрагменты, направленные против таких антигенов, известны и включают, например, те, которые описаны в патентах США №№ 8153765, 8603477, 8008450, публикации патентной заявки США US20120189622 или US20100260748; и/или международных PCT публикациях №№ WO2006099875, WO2009080829 или WO2012092612, или WO2014210064. В некоторых вариантах осуществления такие антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты (например, scFv), содержатся в мультиспецифических антителах, мультиспецифических химерных рецепторах, таких как мультиспецифические CAR, и/или мультиспецифических клетках.

## II. СПОСОБЫ ОПТИМИЗАЦИИ И ПРОДУЦИРОВАНИЯ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ, НАПРИМЕР, ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ, КОДИРУЮЩИХ АНТИ-ВСМА CAR, И ОПТИМИЗИРОВАННЫХ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ

[0299] В настоящем документе предложены способы оптимизации полинуклеотидов для экспрессии и/или терапевтического применения, а также полинуклеотиды, оптимизированные, например, такими способами. В некоторых вариантах осуществления предложенные способы или оптимизация приводят к уменьшению гетерогенности и/или повышению гомогенности транскрибированной РНК, такой как матричная РНК (мРНК), например, когда полинуклеотид экспрессируется в клетке, например, в клетке конкретного типа, например клетке млекопитающего, например, человеческой клетке, такой как человеческая Т-клетка, например, первичная человеческая Т-клетка или линейная Т-клетка. В некоторых вариантах осуществления способы оптимизации полинуклеотидов включают

способы идентификации и удаления или изменения последовательности одного или более скрытых сайтов сплайсинга, например, одного или обоих из сайта донора сплайсинга или сайта акцептора сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления способы также, или дополнительно, могут включать кодон-оптимизацию. В некоторых вариантах осуществления кодон-оптимизацию можно выполнять до и/или после применения способов уменьшения гетерогенности транскрибированной РНК (например, мРНК), например, путем удаления или элиминации предсказанных сайтов сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления кодон-оптимизация включена в один или более этапов способа уменьшения гетерогенности транскрибированных РНК. В некоторых вариантах осуществления способы уменьшения гетерогенности, например, путем удаления или элиминации предсказанных сайтов сплайсинга, можно применять после кодон-оптимизации. В некоторых вариантах осуществления предложены способы, в которых полинуклеотид, кодирующий трансген, в том числе полинуклеотид, кодирующий любой из предложенных полипептидов анти-BCMA CAR, может быть оптимизирован для экспрессии и/или для терапевтического применения. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды модифицируют для оптимизации использования кодонов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды кодон-оптимизируют для экспрессии в человеческой клетке, такой как человеческая Т-клетка, например, первичная человеческая Т-клетка. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды, такие как те, которые кодируют любые из антител, рецепторов (таких как антигенные рецепторы, например, химерные антигенные рецепторы) и/или BCMA-специфических связывающих белков, предложенных в настоящем документе, модифицируют, или модифицировали, для уменьшения гетерогенности или содержания одной или более нуклеотидных последовательностей, описанных в настоящем документе (например, способами оптимизации), с получением полипептидов, таких как CAR, с улучшенными признаками в сравнении с теми, которые содержат определенные эталонные последовательности, или которые не были оптимизированы. В число таких признаков входят уменьшение гетерогенности РНК, например, которая является следствием присутствия одного или более сайтов сплайсинга, таких как один или более скрытых сайтов сплайсинга, и/или улучшение экспрессии и/или поверхностной экспрессии закодированного белка, например, повышение уровней, однородности или воспроизводимости экспрессии среди клеток или разных терапевтических клеточных композиций, генетически модифицированных для экспрессии полипептидов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в человеческих клетках.

[0300] Геномные нуклеотидные последовательности, как правило, в природе, в клетке млекопитающего, подвергаются процессингу одновременно с транскрипцией или сразу после транскрипции, при этом создаваемая матричная рибонуклеиновая кислота-предшественник (пре-мРНК), транскрибированная с последовательности геномной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), в некоторых случаях редактируется путем сплайсинга для удаления интронов, с последующим лигированием экзонов в

эукариотических клетках. Консенсусные последовательности для сайтов сплайсинга известны, но в некоторых аспектах информация о конкретных нуклеотидах, определяющих сайт сплайсинга, может быть сложной и может не быть легко получаемой известными в настоящее время способами. Скрытые сайты сплайсинга представляют собой сайты сплайсинга, которые не могут быть предсказаны, исходя из стандартных консенсусных последовательностей, и активируются переменным образом. Таким образом, переменный сплайсинг пре-мРНК в скрытых сайтах сплайсинга приводит к гетерогенности продуктов транскрибированной мРНК после экспрессии в эукариотических клетках.

[0301] Полинуклеотиды, создаваемые для экспрессии трансгенов, как правило, конструируют из нуклеотидных последовательностей, таких как комплементарная ДНК (кДНК) или ее фрагменты, которые не содержат интронов. Таким образом, не ожидается, что будет происходить сплайсинг таких последовательностей. Однако присутствие скрытых сайтов сплайсинга в последовательности кДНК может приводить к непреднамеренным или нежелательным реакциям сплайсинга и гетерогенности транскрибированной мРНК. Такая гетерогенность приводит к трансляции нежелательных белковых продуктов, таких как укороченные белковые продукты с переменными аминокислотными последовательностями, которые отличаются модифицированной экспрессией и/или активностью.

[0302] Также предложены способы и подходы для определения гетерогенности транскрибированной нуклеиновой кислоты, например, кодирующей или содержащей трансген, или кодирующей рекомбинантный белок. В некоторых вариантах осуществления способы включают определение гетерогенности последовательности транскрибированной нуклеиновой кислоты, содержащей всю, или часть 5'-нетранслируемой области (5' UTR) и/или всю, или часть 3'-нетранслируемой области (3' UTR), транскрибированной нуклеиновой кислоты. В настоящем документе также предложены способы определения присутствия сайтов сплайсинга, таких как скрытые сайты сплайсинга, на основании гетерогенности транскрибированной нуклеиновой кислоты. Также предложены способы идентификации трансгена-кандидата для удаления сайтов сплайсинга, таких как скрытые сайты сплайсинга, с использованием предложенных способов определения гетерогенности транскрибированной нуклеиновой кислоты трансгена. Также предложены способы уменьшения гетерогенности транскрипта экспрессированного трансгена.

[0303] В настоящем документе также предложены способы идентификации трансгена или рекомбинантного белка, или нуклеиновой кислоты - кандидата для удаления или модификации одного или более сайтов сплайсинга, таких как скрытые сайты сплайсинга, например, на основании определенной гетерогенности транскрибированной нуклеиновой кислоты, например, трансгена.

[0304] Также предложены способы и подходы для уменьшения гетерогенности транскрибированной нуклеиновой кислоты (например, транскрипта) трансгена (например, транскрипта экспрессированного трансгена) или другой нуклеиновой кислоты. Такие

способы и подходы могут включать идентификацию трансгена-кандидата для удаления сайтов сплайсинга (таких как скрытые сайты сплайсинга) в соответствии с предложенными способами и идентификацию одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга в трансгене. В вариантах осуществления предложенных способов сайты донора сплайсинга и/или сайты акцептора сплайсинга могут находиться в транслируемых и/или нетранслируемых областях транскрибированной нуклеиновой кислоты (например, транскрипта).

[0305] В некоторых вариантах осуществления элиминация сайтов сплайсинга, таких как скрытые сайты сплайсинга, может приводить к улучшению или оптимизации экспрессии трансгенного продукта, такого как полипептид, транслированный с трансгена, например, полипептид анти-BCMA CAR. Сплайсинг в скрытых сайтах сплайсинга закодированного трансгена, такого как молекула закодированного анти-BCMA CAR, может приводить к уменьшению экспрессии белка, например, экспрессии на клеточных поверхностях, и/или ослаблению функции, например, ослаблению внутриклеточной сигнализации. В настоящем документе предложены полинуклеотиды, кодирующие белки анти-BCMA CAR, которые были оптимизированы для уменьшения или элиминации скрытых сайтов сплайсинга. В настоящем документе также предложены полинуклеотиды, кодирующие белки анти-BCMA CAR, которые были оптимизированы для экспрессии кодонов, и/или в которых одна или более последовательностей, например, тех, которые идентифицированы при помощи способов или наблюдений, описанных в настоящем документе, относящихся к сайтам сплайсинга, присутствуют, и/или в которых идентифицированный сайт сплайсинга, такой как любой из идентифицированных, как описано в настоящем документе, сайтов сплайсинга, не присутствуют. В число предложенных полинуклеотидов входят те, которые имеют гетерогенность РНК или количество сплайсированных форм ниже определенной степени при экспрессии в определенных условиях и/или при введении в клетки определенного типа, такие как человеческие Т-клетки, например, первичные человеческие Т-клетки, а также клетки и композиции, и изделия, содержащие такие полипептиды и/или проявляющие такие свойства.

[0306] В некоторых вариантах осуществления уменьшение гетерогенности РНК или удаление потенциального сайта сплайсинга включает модификацию полинуклеотида. В некоторых вариантах осуществления модификация включает одну или более нуклеотидных модификаций, таких как замена или замещение, в сравнении с эталонным полинуклеотидом, таким как не модифицированный полинуклеотид, кодирующий тот же полипептид. В некоторых вариантах осуществления эталонный полинуклеотид представляет собой полинуклеотид, для которого транскрибированная РНК (например, мРНК) при экспрессии в клетке имеет гетерогенность РНК более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50% или более. В некоторых вариантах осуществления предложенные способы могут приводить к получению полинуклеотидов, для которых гетерогенность РНК транскрибированной РНК снижена на более чем или

более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50% или более. В некоторых вариантах осуществления предложенные способы приводят к получению полинуклеотидов, в которых гомогенность РНК транскрибированной РНК составляет по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% или более.

#### **А. Способы определения и уменьшения гетерогенности РНК**

[0307] В настоящем документе предложены способы, подходы и стратегии для определения, оценки и/или уменьшения гетерогенности нуклеиновой кислоты, такой как транскрибированная РНК, например, экспрессированной в конкретном типе клеток или контексте, а также полинуклеотиды, отличающиеся уменьшением такой гетерогенности и/или ее вероятности, в сравнении с эталонным полинуклеотидом. В некоторых вариантах осуществления эталонный полинуклеотид может быть оценен в отношении гетерогенности РНК, например, способами, описанными в данном разделе. В некоторых вариантах осуществления предложенные подходы включают определение гетерогенности РНК (например, мРНК) или ее вероятности, например, в конкретной клетке или контексте, например, вследствие скрытых сайтов сплайсинга. В некоторых аспектах такую гетерогенность определяют путем амплификации РНК-транскриптов с использованием первого праймера, специфического для 5'-нетранслируемой области (5' UTR), соответствующей части элемента, расположенного выше трангена в транскрибированной РНК, такого как промотор, и второго праймера, специфического для 3'-нетранслируемой области (3' UTR), расположенной ниже экспрессируемого трангена в последовательности транскрибированной РНК, или специфического для последовательности в трангене. В некоторых вариантах осуществления способы включают амплификацию транскрибированной нуклеиновой кислоты с использованием по меньшей мере одной пары 5' и 3'-праймеров, при этом по меньшей мере одна пара включает 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5'-нетранслируемой области (5' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3'-нетранслируемой области (3' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, с получением одного или более амплифицированных продуктов. В некоторых вариантах осуществления способы включают обнаружение амплифицированных продуктов, при этом присутствие двух или более амплифицированных продуктов из по меньшей мере одной пары 5' и 3'-праймеров указывает на гетерогенность амплифицированных продуктов. В некоторых вариантах осуществления обнаруженными отличиями в транскриптах являются разные длины амплифицированного транскрипта. В некоторых вариантах осуществления обнаруженными отличиями в транскриптах являются отличия в хроматографических профилях. Иллюстративные способы идентификации полинуклеотида с гетерогенностью РНК описаны ниже. В некоторых вариантах осуществления способы включают оценку гетерогенности РНК с целью модификации для уменьшения гетерогенности. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды, отличающиеся гетерогенностью РНК более чем, или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более, выбирают

для нуклеотидной модификации с целью удаления одного или более сайтов сплайсинга, таких как один или более скрытых сайтов сплайсинга.

### **1. Определение гетерогенности РНК**

[0308] Гетерогенность РНК можно определять любым из ряда способов, предложенных в настоящем документе, или описанных или известных. В некоторых вариантах осуществления гетерогенность РНК транскрибированной нуклеиновой кислоты определяют путем амплификации транскрибированной нуклеиновой кислоты, например, методом полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР), с последующим обнаружением одного или более отличий, таких как отличия в размерах, в одном или более амплифицированных продуктах. В некоторых вариантах осуществления гетерогенность РНК определяют на основании числа имеющих разные длины амплифицированных продуктов или относительного количества имеющих разные длины амплифицированных продуктов. Например, в некоторых вариантах осуществления гетерогенность РНК количественно определяют путем определения числа, количества или относительного количества имеющих разные длины амплифицированных продуктов в сравнении с числом или количеством всех амплифицированных продуктов. В некоторых случаях определяют, что все или практически все из конкретных транскриптов имеют одинаковые размеры, и в этом случае гетерогенность РНК является низкой. В некоторых случаях присутствует множество транскриптов разной длины, или большое относительное количество конкретных транскриптов имеют отличающийся размер в сравнении с предсказанным размером амплифицированного продукта без скрытых или нежелательных событий сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления гетерогенность РНК можно рассчитывать путем деления общего числа или количества всех амплифицированных продуктов, имеющих отличающийся размер в сравнении с предсказанным размером амплифицированного продукта, на общее число или количество всех амплифицированных продуктов. В некоторых вариантах осуществления предсказанный размер транскрипта или амплифицированного продукта получен для РНК, которая не содержит или, как предсказано, не содержит скрытые сайты сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления в предсказанном размере транскрипта или амплифицированного продукта учтены один или более сайтов сплайсинга, которые желательны или преднамеренно внесены.

[0309] В некоторых вариантах осуществления РНК, такую как суммарная РНК или цитоплазматическая полиаденилированная РНК, собирают из клеток, экспрессирующих трансген, подлежащий оптимизации, и амплифицируют полимеразной цепной реакцией с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР) с использованием праймера, специфического для 5'-нетранслируемой области (5' UTR), в некоторых случаях соответствующей части последовательности промотора в экспрессионном векторе, расположенной выше трансгена в транскрибированной РНК, и праймера, специфического для 3'-нетранслируемой области (3' UTR), расположенной ниже экспрессированного трансгена в последовательности транскрибированной РНК, или праймера, специфического для последовательности в

трангене. В конкретных вариантах осуществления по меньшей мере для амплификации трангена используют по меньшей мере один праймер, комплементарный последовательности в 5'-нетранслируемой области (UTR), и по меньшей мере один праймер, комплементарный последовательности в 3'-нетранслируемой области (UTR). Иллюстративное описание амплификации транскрипта и полученного продукта с использованием прямого праймера, специфического для 5' UTR, и праймера, специфического для нуклеотидной последовательности в 3' UTR, а также предсказанного амплифицированного продукта, в котором отсутствовали события сплайсинга, представлено на ФИГ. 21А. Иллюстративное описание иллюстративных множественных амплифицированных продуктов (то есть, гетерогенность), полученных при амплификации транскрипта, который имеет 5' UTR, с транскрибированной последовательностью промотора, которая содержит известный сайт донора сплайсинга (P-SD) и известный сайт акцептора сплайсинга (P-SD), транскрибированного трангена, содержащего неизвестный (скрытый) сайт донора сплайсинга (T-SD), два неизвестных (скрытых) сайта акцептора сплайсинга (T-SA) и 3' UTR, с использованием праймеров, специфических для областей 5' UTR и 3' UTR, представлено на ФИГ. 21В.

[0310] Иллюстративные праймеры, специфические для 5'-нетранслируемой области (UTR), включают праймеры, направленные на последовательности в промоторе трангена. В некоторых примерах праймер специфичен для промотора EF1a/HTLV. Иллюстративный прямой праймер, специфический для промотора EF1a-HTLV, приведен в SEQ ID NO: 763.

[0311] Иллюстративные праймеры, специфические для 3'-нетранслируемой области (UTR), включают праймеры, направленные на 3'-посттранскрипционные регуляторные элементы, расположенные ниже трангена. Иллюстративные 3'-посттранскрипционные регуляторные элементы включают посттранскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита сурков (WHP) (WPRE) с последовательностью SEQ ID NO: 636. Иллюстративный прямой праймер, специфический для WPRE, приведен в SEQ ID NO: 764.

[0312] В некоторых вариантах осуществления несколько пар праймеров можно использовать для амплификации трангена, например, для длинных трангенов. В некоторых вариантах осуществления можно использовать последовательные или вложенные пары прямых и обратных праймеров для создания скользящего окна амплифицированных продуктов для получения полного и перекрывающего покрытия последовательности. Как правило, праймеры проектируют для амплификации трангена длиной примерно 1,5-6 кб, 2-6 кб или 3-6 кб. Иллюстративное описание амплификации транскрипта с использованием вложенной пары праймеров представлено на ФИГ. 21С.

[0313] Амплифицированную нуклеотидную последовательность затем анализируют на гетерогенность в отношении длин амплифицированных транскриптов. В некоторых примерах гетерогенность определяют на основании числа и интенсивности полос для экспрессированной последовательности. В некоторых вариантах осуществления последовательности РНК, имеющие события сплайсинга при экспрессии, образуют несколько полос с разной подвижностью. В некоторых вариантах осуществления

обнаруживают основную полосу в зоне предсказанной подвижности для последовательности, не имеющей каких-либо не предсказанных событий сплайсинга, и 1 или более дополнительных полос с разными интенсивностью и подвижностью, что указывает на наличие одного или более скрытых событий сплайсинга в последовательности трансгена.

[0314] Квалифицированный специалист способен разделять РНК, такую как матричная РНК, и анализировать ее гетерогенность различными методами. Неограничивающие иллюстративные методы включают электрофорез в агарозном геле, капиллярный электрофорез в чип-формате, аналитическое центрифугирование, проточное фракционирование в силовом поле и хроматографию, такую как эксклюзионная хроматография или жидкостная хроматография.

[0315] Один или более этапов вышеописанных методов можно проводить в денатурирующих условиях, частично денатурирующих условиях или не денатурирующих условиях. Денатурирующие условия могут включать условия, вызывающие денатурацию транскрипта нуклеиновой кислоты (например, мРНК) из-за температуры, хаотропных средств (включая соли), органических средств, в числе прочих механизмов денатурации. При термальных денатурирующих условиях можно использовать повышенную температуру. Повышенная температура может представлять собой температуру, которая достаточна для денатурации внутримолекулярных водородных связей, что вызывает изменения или утрату вторичной или третичной структуры, и так далее. Например, температура или условия термальной денатурации могут включать температуру от 25 градусов Цельсия до 95 градусов Цельсия, 35-85 градусов Цельсия, 55-75 градусов Цельсия или в ином диапазоне в составе данных диапазонов. Аналогично, по мере необходимости можно использовать более высокие или низкие температуры для вызывания желательного уровня денатурации. Температура или условия термальной денатурации также могут зависеть от природы транскрипта нуклеиновой кислоты, так что используют разные температуры для разных транскриптов нуклеиновой кислоты или типов транскриптов нуклеиновой кислоты. Денатурирующие условия также могут включать использование хаотропных средств, таких как перхлорат лития и другие перхлоратные соли, гуанидиния хлорид и другие соли гуанидиния, мочевины, бутанол, этанол, ацетат лития, хлорид магния, фенол, пропанол, додецилсульфат натрия, тиомочевина или другие. Денатурирующие условия также могут включать использование органических денатурирующих средств, таких как диметилсульфоксид (ДМСО), ацетонитрил и глиоксаль. Кроме того, денатурирующие условия могут включать использование сочетания двух или более из этих типов денатурирующих условий. Любой один или более этапов способов определения гетерогенности РНК можно проводить при повышенной температуре или при температуре окружающей среды, с добавлением или без добавления хаотропных или органических средств.

#### **а) Электрофорез в геле**

[0316] В некоторых вариантах осуществления топологию и кажущийся

(гидродинамический) размер РНК-транскрипта можно анализировать методом электрофореза в геле, таким как электрофорез в агарозном геле. В некоторых примерах РНК-транскрипт можно анализировать в 0,05% - 2% агарозном геле, например, 1,2% агарозном геле, и визуализировать путем окрашивания или с использованием зондов, специфических для конкретной последовательности. В некоторых вариантах осуществления РНК-транскрипты можно непосредственно оценивать методом электрофореза в геле или можно оценивать после амплификации, например, методами количественной амплификации. Окрашивание для визуализации нуклеиновых кислот в агарозном геле хорошо известно. Иллюстративные красители включают краситель для нуклеиновых кислот BlueView™ (Millipore Sigma), краситель для нуклеиновых кислот SYBR® золотой (ThermoFisher), краситель для нуклеиновых кислот SYBR® зеленый (Millipore Sigma), SYBR® зеленый II (ThermoFisher), краситель для нуклеиновых кислот PicoGreen® (Invitrogen) и бромид этидия: 0,5 мкг/мл, приготовленный в дистиллированной воде или включенный в гель. В некоторых примерах нуклеиновую кислоту окрашивают за счет связывания Quant-iT™ PicoGreen®, с последующим обнаружением флуоресценции и количественным определением амплифицированных продуктов. Метод с использованием агарозного геля позволяет лучше определять количество, но имеет меньшее разрешение, показатель распределения по размерам. В некоторых вариантах осуществления фрагменты нуклеиновой кислоты, разделенные методом электрофореза в агарозном геле, можно визуализировать методом нозерн-блоттинга для РНК или саузерн-блоттинга для продуктов, амплифицированных в полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР).

#### **в) Капиллярный электрофорез в чип-формате**

[0317] Капиллярный электрофорез в чип-формате (например, с использованием AGILENT 2100 BIOANALYZER™) можно использовать в качестве быстрого и рутинного метода для мониторинга целостности РНК-транскрипта и его распределения по размерам. Разделение основано на гидродинамическом размере и заряде, и зависит от длины нуклеотида и свернутой структуры РНК-транскрипта. В одном варианте осуществления метод включает помещение образца в канал чипа с электролитной средой и приложение к чипу электрического поля, которое вызывает миграцию РНК-транскрипта и примесей через канал. РНК-транскрипт имеет иную электрофоретическую подвижность, чем примеси, так что РНК-транскрипт мигрирует через канал со скоростью, которая отличается от скорости, с которой примеси мигрируют через канал. Электрофоретическая подвижность РНК-транскрипта пропорциональна ионному заряду РНК-транскрипта и обратно пропорциональна силам трения в электролитной среде. Метод также включает отбор из чипа образца, содержащего РНК-транскрипт, и одной или более отдельных порций образца, содержащих примеси. Кроме того, метод включает характеристику аспекта по меньшей мере одной из частей образца, содержащей РНК-транскрипт, и одной или более отдельных частей образца, содержащих примеси. Характеристика может включать, например, количественное определение заряженных вариантов.

### **с) Аналитическое ультрацентрифугирование (АУЦ)**

[0318] Аналитическое ультрацентрифугирование (АУЦ) представляет собой используемый в фазе раствора метод определения распределения по молекулярной массе, без потенциальных артефактов, которые могут быть внесены за счет взаимодействия с матрицей (смолой или гелем) при использовании ЭХ, разделения в агарозе или других методов. Используют как равновесное АУЦ, так и ультрацентрифугирование седиментационного равновесия, и последнее позволяет получать коэффициенты седиментации, которые связаны как с размером, так и с формой, РНК-транскрипта. Для анализа РНК-транскриптов используют аналитическую ультрацентрифугу BECKMAN™, оборудованную сканирующей оптикой в УФ/видимой области.

### **д) Проточное фракционирование в силовом поле (ПФСП)**

[0319] Другим используемым в фазе раствора методом оценки распределения по гидродинамическим размерам является проточное фракционирование в силовом поле (ПФСП). ПФСП представляет собой метод разделения, в котором поле прикладывают к жидкой суспензии или раствору, прокачиваемому по длинному и узкому каналу, перпендикулярно направлению потока, чтобы вызвать разделение полинуклеотидов (РНК-транскриптов), присутствующих в жидкости, под действием силы, создаваемой полем. Поле может быть асимметричным потоком через полупроницаемую мембрану, гравитационным, центробежным, термоградиентным, электрическим, магнитным и так далее.

### **е) Хроматография**

[0320] Хроматографию также можно использовать для обнаружения гетерогенности длин РНК-транскрипта. Методы эксклюзионной хроматографии и жидкостной хроматографии для определения гетерогенности мРНК описаны в WO2014144711, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

## **В. Способы оптимизации полинуклеотидов, например, полинуклеотидов, кодирующих анти-BCMA CAR**

[0321] В некоторых вариантах осуществления предложенные способы включают оптимизацию и/или модификацию полинуклеотида, например, для уменьшения гетерогенности РНК и/или удаления или элиминации скрытых или нежелательных сайтов сплайсинга. В некоторых аспектах предложены способы уменьшения гетерогенности экспрессированного трансгенного транскрипта, включающие идентификацию трансгена-кандидата для удаления сайтов сплайсинга, например, способами, описанными выше в разделе I.A.; идентификацию одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга; и модификацию нуклеотидной последовательности в, или вблизи одного или более идентифицированных сайтов донора сплайсинга, с получением таким образом модифицированного полинуклеотида. В некоторых аспектах способы также включают оценку трансгена-кандидата для удаления сайтов сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления способы также включают повторение одного или более этапов, описанных выше, до достижения уменьшения гетерогенности транскрипта в

сравнении с определенной исходной гетерогенностью транскрипта (например, до модификации).

[0322] В некоторых вариантах осуществления способы уменьшения гетерогенности, например, за счет удаления или элиминации предсказанных сайтов сплайсинга, можно применять после кодон-оптимизации или на не кодон-оптимизированной РНК. В некоторых аспектах способы включают идентификацию сайтов сплайсинга, например, одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга, и модификацию или изменение последовательности РНК (например, путем замены или замещения одного или более нуклеотидов в, или вблизи сайтов сплайсинга). В некоторых вариантах осуществления кодон-оптимизацию можно проводить до и/или после применения способов уменьшения гетерогенности транскрибированной РНК (например, мРНК), например, путем удаления или элиминации предсказанных сайтов сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления, является ли транскрипт кандидатом для уменьшения гетерогенности РНК, определяют на основе способа определения гетерогенности РНК, например, как описано в разделе II.A настоящего документа. В некоторых аспектах транскрибированную нуклеиновую кислоту, которая, как установлено, имеет гетерогенность, идентифицируют в качестве трансгена-кандидата для удаления одного или более сайтов сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления последовательность трансгена может быть кандидатом для уменьшения гетерогенности, если транскрибированная нуклеиновая кислота трансгена-кандидата имеет гетерогенность по меньшей мере или по меньшей мере примерно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или более, после экспрессии в клетке. В некоторых вариантах осуществления после транскрипции и процессинга полинуклеотида в человеческой клетке, необязательно, человеческой Т-клетке, матричная РНК (мРНК) с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

### ***1. Способы уменьшения гетерогенности РНК***

[0323] Предложены способы уменьшения гетерогенности экспрессированного трансгенного транскрипта. В некоторых вариантах осуществления способы включают идентификацию одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга и модификацию нуклеотидной последовательности в, или вблизи одного или более идентифицированных сайтов донора сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления способы также включают оценку трансгена в качестве кандидата для удаления сайтов сплайсинга. В некоторых аспектах один или более этапов, описанных в настоящем документе, можно повторять, например, до достижения уменьшения потенциальной гетерогенности РНК в сравнении с исходным или не модифицированным транскриптом.

#### **а) Идентификация сайтов сплайсинга**

[0324] В некоторых аспектах наличие потенциальных скрытых сайтов сплайсинга (сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга, которые присутствуют в

транскрипте, таком как транскрипт трансгена) может приводить к гетерогенности РНК-транскрипта после экспрессии в клетке. В некоторых вариантах осуществления способы включают идентификацию одного или более потенциальных сайтов сплайсинга, которые могут присутствовать в транскрипте трансгена, которые являются нежелательными, и/или которые могут быть образованы в транскрипте трансгена из различных базовых последовательностей после кодон-оптимизации транскрипта и/или за счет мутации или ошибки, или погрешности в транскрипции. В некоторых аспектах предложенных вариантов осуществления сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга идентифицируют независимо. В некоторых вариантах осуществления сайт(ы) акцептора сплайсинга и/или сайт(ы) донора сплайсинга является/являются каноническими, не каноническими и/или скрытыми сайтами акцептора сплайсинга и/или сайтами донора сплайсинга.

[0325] В некоторых вариантах осуществления предложенные способы включают идентификацию одного или более потенциальных сайтов сплайсинга (например, канонических, не канонических и/или скрытых сайтов акцептора сплайсинга и/или сайтов донора сплайсинга, или сайтов ветвления) в полинуклеотиде, таком как полинуклеотид, кодирующий трансген, например, рекомбинантный рецептор, который может проявлять гетерогенность РНК. Также предложены полинуклеотиды, имеющие меньшее количество таких сайтов сплайсинга в сравнении с такими эталонными полинуклеотидами.

[0326] В некоторых аспектах идентификация одного или более сайтов сплайсинга в нуклеотидной последовательности является итеративным процессом. В некоторых вариантах осуществления сайты сплайсинга могут быть идентифицированы с использованием инструмента предсказания сайта сплайсинга и/или кодон-оптимизации, например, путем передачи исходной или эталонной последовательности, кодирующей трансген, такой как ВСМА-связывающий рецептор, например, анти-ВСМА CAR, в базу данных, организацию, осуществляющую синтез генов, или другой источник, способный при помощи компьютерных вычислений и алгоритмов анализировать исходную или эталонную последовательность для идентификации, или предсказания, сайтов сплайсинга и/или для кодон-оптимизации, и/или для удаления сайтов сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления после модификации последовательности для кодон-оптимизации и/или удаления сайтов сплайсинга проводят одну или более дополнительных оценок последовательности, например, измененной или модифицированной нуклеотидной последовательности, для дополнительной оценки удаления сайтов сплайсинга, таких как скрытые сайты сплайсинга, с использованием одного или более иного, или дополнительного, инструмента(ов) предсказания сайтов сплайсинга.

[0327] В некоторых аспектах гетерогенность РНК может являться результатом активности сплайсингосомы, присутствующей в эукариотической клетке. В некоторых аспектах сплайсинг, как правило, происходит в серии реакций, катализируемых сплайсингосомой. Консенсусные последовательности для сайтов сплайсинга известны, но в некоторых аспектах информация о конкретных нуклеотидах, определяющих сайт сплайсинга, может быть сложной и может не быть легко получаемой известными в

настоящее время способами. Скрытые сайты сплайсинга представляют собой сайты сплайсинга, которые не могут быть предсказаны, исходя из стандартных консенсусных последовательностей, и активируются переменным образом. Таким образом, переменный сплайсинг пре-мРНК в скрытых сайтах сплайсинга приводит к гетерогенности продуктов транскрибированной мРНК после экспрессии в эукариотических клетках. В некоторых случаях в сплайсингосомных интронах для события сплайсинга необходим донорский сайт (как правило, на 5'-конце интрона), сайт ветвления (вблизи 3'-конца интрона) и акцепторный сайт (3'-конец интрона). Сайт донора сплайсинга может содержать последовательность GU на 5'-конце интрона, с большой менее консервативной областью. Сайт акцептора сплайсинга на 3'-конце интрона может заканчиваться последовательностью AG.

[0328] В некоторых вариантах осуществления сайты сплайсинга, включая потенциальные скрытые сайты сплайсинга, могут быть идентифицированы путем сравнения последовательностей с известными последовательностями сайтов сплайсинга, например, с последовательностями в базе данных. В некоторых вариантах осуществления сайты сплайсинга могут быть идентифицированы путем компьютерного анализа нуклеотидных последовательностей при помощи инструментов предсказания сайтов сплайсинга, таких как Human Splice Finder (Desmet *et al.*, Nucl. Acids Res. 37(9):e67 (2009)), нейронно-сетевой инструмент предсказания сайтов сплайсинга, NNSplice (Reese *et al.*, J. Comput. Biol., 4(4):311 (1997)), GeneSplicer (Pertea *et al.*, Nucleic Acids Res. 2001 29(5): 1185-1190) или NetUTR (Eden and Brunak, Nucleic Acids Res. 32(3):1131 (2004)), которые идентифицируют потенциальные сайты сплайсинга и вероятность события сплайсинга в таких сайтах. Дополнительные инструменты предсказания сплайсинга включают предикторы сплайсинга RegRNA, ESEfinder и MIT. Инструменты предсказания сплайсинга, такие как GeneSplicer, были отработаны и/или успешно протестированы на базах данных для разных биологических видов, таких как человек, *Drosophila melanogaster*, *Plasmodium falciparum*, *Arabidopsis thaliana* и рис. В некоторых вариантах осуществления разные инструменты предсказания могут быть адаптированы в разной степени на разных базах данных и/или для разных биологических видов. В некоторых вариантах осуществления один или более инструментов предсказания выбирают на основании их пригодности для определенной базы данных и/или для определенных биологических видов. См. например, Saxonov *et al.*, (2000) Nucleic Acids Res., 28, 185-190.

[0329] В некоторых вариантах осуществления выбирают один или более инструментов предсказания сайтов сплайсинга для использования в определении потенциальных донорских и/или акцепторных сайтов сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления можно использовать инструменты предсказания сайтов сплайсинга, которые могут быть использованы локально; которые могут быть переобучены с использованием набора данных на сайте пользователя; которые могут использовать базы данных для определенных биологических видов (таких как человек), которые могут компилировать данные для нескольких платформ, которые позволяют предсказывать в

реальном времени выбор последовательности, и/или которые представляют собой OSI-сертифицированное программное обеспечение с открытым исходным кодом, так что конкретные инструменты или дополнительные модули могут быть модифицированы. Иллюстративные инструменты, которые могут быть использованы, включают NNSplice, GeneSplicer, или оба.

[0330] В некоторых аспектах инструменты предсказания сайтов сплайсинга используют для идентификации списка потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга в последовательности, такой как полинуклеотидная последовательность, содержащая трансгенные последовательности. В некоторых аспектах инструменты предсказания также могут создавать один или более балльных показателей прогнозирования для одной или более последовательностей в полинуклеотиде, которые могут указывать на вероятность того, что одна или более последовательностей являются последовательностями донорского сайта или акцепторного сайта сплайсинга.

[0331] В некоторых вариантах осуществления способ включает сравнение показателя прогнозирования для конкретного сайта сплайсинга с пороговым показателем или эталонным показателем для определения или идентификации конкретных сайтов сплайсинга, которые являются кандидатами на элиминацию или удаление. Например, в некоторых вариантах осуществления предсказанный сайт сплайсинга идентифицируют как потенциальный сайт сплайсинга, если показатель прогнозирования является большим, или не меньшим, чем пороговый показатель или эталонный показатель. В некоторых аспектах принятие решения об элиминации или удалении конкретного сайта сплайсинга включает сравнение показателя прогнозирования с эталонным показателем или пороговым показателем; а также рассмотрение того, является ли конкретный сайт сплайсинга желательным или намеренным (например, когда событие сплайсинга является более полезным или необходимым для регуляции транскрипции и/или трансляции). В некоторых аспектах вероятность того, что полученный сплайс-вариант утратит нужную функцию или будет иметь нарушенную функцию, также может быть рассмотрена при определении конкретных донорских и/или акцепторных сайтов для элиминации или удаления. В некоторых аспектах один или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга имеют показатель примерно или по меньшей мере примерно 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95 или 1,0 (например, по шкале с максимумом 1,0) для события сплайсинга или вероятности события сплайсинга, и сайт может быть кандидатом на элиминацию или удаление сайта сплайсинга. В некоторых аспектах показатель, например, используемый GeneSplicer, в одном или более потенциальных сайтах донора сплайсинга и/или сайтах акцептора сплайсинга основан на разнице между логарифмом отношения шансов, полученным для данной последовательности с помощью истинной модели Маркова, и показателем, рассчитанным с помощью ложной модели Маркова. В конкретных вариантах осуществления сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга оценивают независимо или индивидуально. В некоторых вариантах осуществления сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга оценивают в виде пары донора/акцептора

сплайсинга.

#### **в) Элиминация сайтов сплайсинга**

[0332] В некоторых вариантах осуществления предложенные способы включают элиминацию или удаление одного или более сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга, например, потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга, которые могут быть вовлечены в событие скрытого сплайсинга, являющееся нежелательным или приводящее к нежелательной гетерогенности РНК. В некоторых вариантах осуществления элиминация одного или более сайтов сплайсинга включает модификацию одного или более нуклеотидов (например, путем замещения или замены) в, или вблизи донорского и/или акцепторного сайтов сплайсинга, которые являются кандидатами на удаление. В некоторых аспектах конкретный нуклеотид в кодоне, который находится в, или вблизи сайта сплайсинга, модифицируют (например, замещают или заменяют). В некоторых аспектах при модификации (такой как замещение или замена) сохраняется, или не изменяется, аминокислота, закодированная конкретным кодоном в данном сайте, и в то же время удаляется потенциальный донорский и/или акцепторный сайты сплайсинга.

[0333] В некоторых вариантах осуществления кодон в, или вблизи сайта сплайсинга для модификации включает один или более кодонов, которые включают один или оба из двух нуклеотидов в потенциальном сайте сплайсинга (в некоторых случаях называемых «кодоном сайта сплайсинга»). Если предсказано, что потенциальный сплайсинг будет происходить между двумя нуклеотидами в кодоне, данный кодон является единственным кодоном сайта сплайсинга для данного сайта сплайсинга. Если предсказано, что потенциальный сплайсинг будет происходить между двумя соседними кодонами, например, между последним нуклеотидом первого кодона и первым нуклеотидом следующего кодона, данные два кодона являются кодонами сайта сплайсинга. Например, для сайтов сплайсинга, нахождение которых предсказано на границе между двумя кодонами, два соседних кодона могут быть кандидатами на модификацию нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления один или более кодонов включают один кодон сайта сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления один или более кодонов включают оба кодона сайта сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления способ включает элиминацию потенциального сайта донора сплайсинга путем модификации одного или обоих кодонов сайта сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления способ включает элиминацию потенциального сайта акцептора сплайсинга путем модификации одного или обоих кодонов сайта сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления один или оба кодона в сайте сплайсинга не модифицируют, например, когда отсутствуют синонимичный кодон для кодона сайта сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления, если отсутствуют синонимичные кодоны для конкретного кодона сайта сплайсинга, могут быть модифицированы один или более нуклеотидов в соседнем кодоне. В некоторых вариантах осуществления один или более кодонов, которые модифицируют, включают кодон сайта сплайсинга, при этом модификация включает изменение одного или обоих нуклеотидов в

сайте сплайсинга на другой нуклеотид или другие нуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления способ включает элиминацию сайта донора сплайсинга путем модификации одного или обоих кодонов сайта сплайсинга, при этом модификация на приводит к замене одного или двух нуклеотидов в сайте сплайсинга на другой нуклеотид, но модифицируют соседний нуклеотид, например, часть кодона, расположенного вблизи сайта сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления модификация соседних или близлежащих нуклеотидов, которые могут быть модифицированы, включает модификацию нуклеотида, который является частью соседнего или близлежащего кодона, такого как кодон, который находится на расстоянии в пределах одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или десяти кодонов выше или ниже кодона сайта сплайсинга.

[0334] В некоторых случаях можно использовать ручную модификацию полинуклеотидов, сохраняя при этом закодированную аминокислотную последовательность, для уменьшения вероятности предсказанного сайта сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления один или более из предсказанных сайтов сплайсинга с вероятностью сайта сплайсинга по меньшей мере 80%, 85%, 90% или 95% вручную модифицируют для уменьшения вероятности события сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления одна или более модификаций представляет/представляют собой замену или замещение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления модификация(и) происходит/происходят на границе сайта донора сплайсинга или на границе сайта акцептора сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из одной или более нуклеотидных модификаций имеет место на расстоянии в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков от границы сайта сплайсинга в случае сайта акцептора сплайсинга и/или сайта донора сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления могут быть созданы библиотеки модифицированных нуклеотидных последовательностей с уменьшенной вероятностью скрытых сайтов сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга оценивают в виде пары донора/акцептора сплайсинга. В конкретных вариантах осуществления сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга оценивают независимо или индивидуально, а не в качестве части пары донора/акцептора сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления один или более предсказанных сайтов сплайсинга не элиминируют. В некоторых вариантах осуществления сайты сплайсинга, такие как известные или предсказанные сайты сплайсинга, в области промотора транскрипта не элиминируют.

[0335] В некоторых вариантах осуществления способ включает элиминацию одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга путем модификации одного или двух кодонов сайта сплайсинга, или одного или более соседних или близлежащих кодонов (например, если синонимичный кодон отсутствует для кодона сайта сплайсинга). В некоторых вариантах осуществления способ включает элиминацию одного или более потенциальных сайтов акцептора сплайсинга путем модификации одного или двух кодонов сайта сплайсинга, или одного или более соседних или близлежащих кодонов (например,

если синонимичный кодон отсутствует для кодона сайта сплайсинга). В некоторых вариантах осуществления соседний или близлежащий кодон, который подлежит модификации, включает кодон, который расположен на расстоянии в пределах одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или десяти кодонов выше или ниже от кодона сайта сплайсинга, например, кодон, который расположен на расстоянии в пределах одного, двух или трех кодонов от сайта сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления способы могут включать удаление или элиминацию потенциального сайта ветвления для сплайсинга. В некоторых аспектах нуклеотид в кодоне в, или вблизи сайта ветвления может быть модифицирован, например, замещен или заменен, для элиминации скрытого сплайсинга и/или уменьшения гетерогенности РНК. В некоторых вариантах осуществления модификация одного или более нуклеотидов может включать замещение или замену одного из нуклеотидов, который может быть вовлечен в сплайсинг (например, в сайте донора сплайсинга, сайте акцептора сплайсинга или сайте ветвления сплайсинга), так, что аминокислота, закодированная кодоном, сохраняется, и замещение или замена нуклеотида не приводит к изменению полипептидной последовательности, закодированной полинуклеотидом. В некоторых случаях третье положение в кодоне является более вырожденным, чем другие два положения. Таким образом, различные синонимичные кодоны могут кодировать конкретную аминокислоту (смотри, например, раздел II.B.2, ниже). В некоторых вариантах осуществления модификация включает замену кодона синонимичным кодоном, используемым у биологического вида, в клетки которого вводят полинуклеотид (например, у человека). В некоторых вариантах осуществления биологическим видом является человек. В некоторых вариантах осуществления один или более кодонов заменяют соответствующими синонимичными кодонами, которые наиболее часто используются у биологического вида, или синонимичными кодонами, которые имеют частоту использования, аналогичную (например, наиболее близкую частоту использования) частоте использования соответствующего кодона (смотри, например, раздел II.B.2, ниже).

[0336] В некоторых вариантах осуществления способы также включают оценку трансгена в качестве кандидата для удаления сайтов сплайсинга после изначально предложенной модификации. В некоторых аспектах предложенная модификация может быть вновь оценена для оценки предложенной модификации и идентификации любых дополнительных потенциальных сайтов сплайсинга после модификации и/или кодон-оптимизации. В некоторых аспектах после модификации последовательности для кодон-оптимизации и/или удаления сайтов сплайсинга одну или более дополнительных оценок последовательности, например, измененной или модифицированной нуклеотидной последовательности, проводят для дополнительной оценки на удаление сайтов сплайсинга, таких как скрытые сайты сплайсинга, с использованием такого же, или одного или более других, или дополнительных, инструментов предсказания сайтов сплайсинга. В некоторых аспектах предложенные модификации рассматривают для последующих этапов, и может быть использована итеративная модификация. В некоторых аспектах способы также

включают повторение любого из этапов идентификации и/или модификации, например, до достижения уменьшения гетерогенности транскрипта в сравнении с исходно определенной гетерогенностью транскрипта. В некоторых вариантах осуществления после итеративной оценки или анализа можно проводить дополнительную или иную модификацию, например, с заменой иного нуклеотида в том же кодоне, или модификацию в ином положении или кодоне. В некоторых вариантах осуществления можно использовать соответствующий иной синонимичный кодон, например, второй по частоте использования в конкретном биологическом виде, или кодон, имеющий частоту использования, аналогичную (например, следующую ближайшую частоту использования) частоте использования соответствующего кодона (смотри, например, раздел II.B.2, ниже).

[0337] В некоторых аспектах предложенная модификация может быть дополнительно оценена, например, для оценки того, приводит ли модификация к появлению нежелательного или дополнительного сайта рестрикции в полинуклеотиде. В некоторых аспектах дополнительный сайт рестрикции может быть нежелательным, и можно рассматривать дополнительную или иную модификацию (например, с заменой другого нуклеотида в том же кодоне или модификацию в ином положении или кодоне). В некоторых аспектах избегают появления конкретного сайта рестрикции, такого как намеченный сайт рестрикции. В некоторых аспектах, если модификация практически не приводит к уменьшению показателя прогнозирования сайта сплайсинга, может быть предложена дополнительная или альтернативная модификация. В некоторых вариантах осуществления показатель прогнозирования сайта сплайсинга может быть уменьшен или снижен на по меньшей мере примерно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% или 75%, после одной или более итераций способов.

[0338] В некоторых вариантах осуществления любых из способов, предложенных в настоящем документе, можно использовать компьютерную систему для применения одного или более этапов, инструментов, функций, процессов или скриптов. В конкретных вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, являются компьютерно-реализуемыми способами и/или осуществляемыми при помощи компьютера. В некоторых вариантах осуществления предсказание, оценку сайтов сплайсинга и модификацию для элиминации или удаления сайтов сплайсинга можно проводить компьютерно-реализуемыми способами и/или способами, которые включают этапы, представляющие собой компьютерно-реализуемые этапы. В некоторых вариантах осуществления сравнение последовательностей с известной базой данных, расчет показателя прогнозирования сайта сплайсинга, определение потенциальной нуклеотидной модификации, кодон-оптимизация и/или любой из итеративных этапов можно выполнять при помощи компьютера или с использованием компьютерно-реализуемых этапов, инструментов, функций, процессов или скриптов. В конкретных вариантах осуществления предложена компьютерная система, включающая процессор и блок памяти, при этом в памяти хранятся инструкции по выполнению с помощью процессора любого одного или более из этапов способов, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах

осуществления способы включают этапы, функции, процессы или скрипты, которые осуществляют при помощи компьютера, например, осуществляют с использованием одной или более компьютерных программ и/или путем использования вычислительных алгоритмов.

[0339] Иллюстративные этапы, функции, процессы или скрипты предложенных способов для идентификации и/или удаления возможных сайтов сплайсинга включают один или более этапов: выбора последовательности, написания последовательностей в формате FASTA, загрузки таблицы кодонов (например, с сайта [www.kazusa.or.jp/codon](http://www.kazusa.or.jp/codon), выполнения GeneSplicer, загрузки предсказаний, анализа кодонов, определения наложений в предсказаниях, идентификацию синонимичного кодона со следующей наиболее высокой частотой использования, обзора сайта рестрикции, создания аннотаций или оценки других кодонов. В конкретных этапах можно оценивать как прямые, так и обратные цепи. В некоторых аспектах ранее аннотированные модификации сайтов сплайсинга также можно рассматривать для возможности итеративной оптимизации. В некоторых вариантах осуществления любой один или более из этапов, функций, процессов или скриптов можно повторять.

[0340] В конкретных вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно осуществлять на практике, по меньшей мере частично, с конфигурациями компьютерных систем, включающими однопроцессорные или многопроцессорные компьютерные системы, миникомпьютеры, большие компьютеры, а также персональные компьютеры, портативные вычислительные устройства, микропроцессорные и/или программируемые бытовые электронные устройства и тому подобное, каждое из которых может оперативно связываться с одним или более ассоциированными устройствами. В конкретных вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, можно осуществлять на практике, по меньшей мере частично, в распределенных вычислительных средах, так что определенные задачи выполняются удаленными обрабатывающими устройствами, которые связаны через коммуникационную сеть. В распределенной вычислительной среде программные модули могут быть расположены в локальных и/или удаленных запоминающих устройствах. В конкретных вариантах осуществления некоторые, или все, этапы способов, предложенных в настоящем документе, можно осуществлять на практике на автономных компьютерах.

[0341] В конкретных вариантах осуществления некоторые, или все, этапы способов, предложенных в настоящем документе, могут действовать в общем контексте исполняемых компьютером инструкций, например, программные модули, плагины и/или скрипты, выполняемые одним или более компонентами. Как правило, программные модули включают рутинные операции, программы, объекты, структуры данных и/или скрипты, которые выполняют конкретные задачи или реализуют определенные абстрактные типы данных. Как правило, функциональность программных модулей можно объединять или распределять по мере необходимости. В конкретных вариантах осуществления инструкции, способные заставить процессор выполнять любой один или более этапов способов,



CTT	L	13,2	536515		CCT	P	17,5	713233
CTC	L	19,6	796638		CCC	P	19,8	804620
CTA	L	7,2	290751		CCA	P	16,9	688038
CTG	L	39,6	161180 1		CCG	P	6,9	281570
ATT	I	16	650473		ACT	T	13,1	533609
ATC	I	20,8	846466		ACC	T	18,9	768147
ATA	I	7,5	304565		ACA	T	15,1	614523
ATG	M	22	896005		ACG	T	6,1	246105
GTT	V	11	448607		GCT	A	18,4	750096
GTC	V	14,5	588138		GCC	A	27,7	112767 9
GTA	V	7,1	287712		GCA	A	15,8	643471
GTG	V	28,1	114353 4		GCG	A	7,4	299495
TAT	Y	12,2	495699		TGT	C	10,6	430311
TAC	Y	15,3	622407		TGC	C	12,6	513028
TAA	*	1	40285		TGA	*	1,6	63237
TAG	*	0,8	32109		TGG	W	13,2	535595
CAT	H	10,9	441711		CGT	R	4,5	184609
CAC	H	15,1	613713		CGC	R	10,4	423516
CAA	Q	12,3	501911		CGA	R	6,2	250760
CAG	Q	34,2	139197 3		CGG	R	11,4	464485
AAT	N	17	689701		AGT	S	12,1	493429
AAC	N	19,1	776603		AGC	S	19,5	791383
AAA	K	24,4	993621		AGA	R	12,2	494682
AAG	K	31,9	129556 8		AGG	R	12	486463

GAT	D	21,8	885429		GGT	G	10,8	437126
GAC	D	25,1	102059	5	GGC	G	22,2	903565
GAA	E	29	117763	2	GGA	G	16,5	669873
GAG	E	39,6	160997	5	GGG	G	16,5	669768

[0343] Например, все кодоны из TCT, TCC, TCA, TCG, AGT и AGC кодируют серин (следует отметить, что Т в ДНК эквивалентно U в РНК). Исходя из частоты использования кодонов у человека, представленной в Таблице 3, выше, соответствующая частота использования для этих кодонов составляет 15,2, 17,7, 12,2, 4,4, 12,1 и 19,5, соответственно. Поскольку для TCG она соответствует 4,4%, то если этот кодон обычно использовать в синтезе гена, тРНК для этого кодона была бы ограничивающей. При кодон-оптимизации целью является балансирование использования каждого кодона с нормальной частотой использования у вида животного, в организме которого планируется экспрессия трансгена.

### **С. Оптимизированный анти-BCMA CAR**

[0344] В некоторых вариантах осуществления исходную или эталонную последовательность, кодирующую трансген, такой как BCMA-связывающий рецептор, например, анти-BCMA CAR, оценивают в отношении кодон-оптимизации и/или удаления сайтов сплайсинга.

[0345] В некоторых вариантах осуществления способы используют для анти-BCMA CAR, например, CAR, содержащего антигенсвязывающий домен scFv, специфический для BCMA, спейсер, такой как спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649, костимулирующую сигнальную область, такую как костимулирующий сигнальный домен из 4-1BB, и сигнальную область CD3-дзета. Иллюстративные идентифицированные сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга, а также их соответствующие показатели, приведены в Таблицах 3 и 4, ниже, для иллюстративного анти-BCMA CAR.

Таблица 3. Предсказанные сайты донора сплайсинга

Таблица 3. Предсказанные сайты донора сплайсинга						
	ИСХОДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ			О/ЭСС ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ		
Область конструкта	Сайт донора сплайсинга	SEQ ID NO	Показатель сплайсинга	Оптимизированный сайт донора сплайсинга	SEQ ID NO	Показатель сплайсинга
Промотор	cgtctag <u>g</u> taagttt	689	1	без изменения		<0,7
scFv-кодирующая						
BCMA-23	gaccaag <u>g</u> tgaccgt	690	Н/П	сaccaag <u>g</u> tgaccgt	698	0,54
BCMA-26	tgcactg <u>g</u> taccagc	691	0,55	без изменения		
BCMA-52	taaactg <u>g</u> taccagc	692	0,76	tgaactg <u>g</u> taccagc	699	<0,7
BCMA-52	atctct <u>g</u> taagggt	693	0,79	atctct <u>g</u> aaatgg	700	<0,7
BCMA-52	ggtcaag <u>g</u> tactctg	694	0,85	ggccagg <u>g</u> cactctg	701	<0,7
BCMA-55	gaggaca <u>g</u> taagcgg	695	0,66	gaggaca <u>g</u> caagagg	702	<0,5
BCMA-55	ggtcaag <u>g</u> tactctg	696	0,85	ggccagg <u>g</u> aaccctg	703	<0,5
BCMA-55	tgccctc <u>g</u> tgctgc	697	<0,50	tgccagc <u>g</u> ttagtgc	704	0,60
Спейсер-кодирующая						
	aatctaag <u>g</u> tacggac	705	0,65	agtcta <u>a</u> atcggac	661	<0,7
	tcaactg <u>g</u> tactgtgg	706	0,96	tcaactg <u>g</u> tactgtgg	662	<0,7
	tcaattg <u>g</u> tactgtgg	616	0,97	tcaactg <u>g</u> tactgtgg	662	<0,7
	acaatta <u>g</u> taaggca	707	0,43	accatct <u>c</u> aaggcc	663	<0,7
	accacag <u>g</u> tgatac	708	0,42	gccccag <u>g</u> ttacac	664	<0,7

CD3-дзета сигнальную область- кодирующая	ttccag <u>gt</u> ccgccg	709	0,74	tcagcag <u>at</u> ccgccg	665	<0,7
Укороченный рецептор, суррогатный маркер - кодирующая						
	ctgctct <u>gt</u> gagtta	710	0,56	ctcctgt <u>gt</u> gaactc	666	<0,7
	acgcaaa <u>gt</u> gtgtaa	711	0,5	tcggaaa <u>gt</u> gtgcaa	667	<0,7
	caacatg <u>gt</u> cagttt	712	0,71	cagcacg <u>gc</u> cagttt	668	<0,7
	aacagag <u>gt</u> gaaaac	713	0,42	aaccggg <u>gc</u> gagaac	669	<0,7
	ctggagg <u>gt</u> gagcca	714	0,82	ctggaag <u>gc</u> gagccc	670	<0,7
	tcttcat <u>gt</u> gagcgg	720	0,84	tgttcat <u>gt</u> gagcgg	671	<0,7
<b>Таблица 4. Предсказанные сайты акцептора сплайсинга</b>						
	ИСХОДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ			О/ЭСС ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ		
Область конструкта	Сайт акцептора сплайсинга	SEQ ID NO	Показатель сплайсинга	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга	SEQ ID NO	Показатель сплайсинга
Промотор						
	tggctccgccttttccc <u>gagg</u> gtg ggggagaaccgtatat	721	0,50	без изменения		
	tgaactgcgtccgccgtct <u>agg</u> ttaa gtttaaagctcaggtc	722	0,71	без изменения		

	ttctgttctgcgccgttac <b>ag</b> atcca agctgtgaccggcgc	723	0,89	без изменения		
scFv-кодирующая						
BCMA-23	ctactacatgagctggatc <b>cg</b> cca ggctccagggaaggggc	724	Н/П	ctactatatgtcctggatc <b>ag</b> acag gcacctggcaaggggc	735	0,46
BCMA-23	ggctgattattattgtagct <b>ct</b> catatg gaggtagtaggtctt	725	Н/П	ggcagattactattgttct <b>ag</b> ctacg gcggcagcagatcct	736	0,55
BCMA-25	ctatgccatgtcctggttc <b>ag</b> gcag gcaccaggcaagggcc	726	0,95	ctatgccatgtcctggttc <b>aa</b> gcag gcaccaggcaagggcc	737	<0,7
BCMA-25	gtccgcctctgtggcgat <b>agg</b> gt gaccgtgacatgtcgcg	727	0,50	без изменения		
BCMA-25	gtgggctttatccgctc <b>taagg</b> cct acggcggcaccacaga	728	0,55	без изменения		
BCMA-25	gtgacatgtcgcgcctccc <b>agg</b> gc atctctaactacctggc	729	0,67	без изменения		
BCMA-25	tacagcgcctccaccctgc <b>ag</b> agc ggagtgcctcccgggtt	730	0,66	без изменения		
BCMA-52	ctggccatcagtggcctcc <b>agt</b> ctg aggatgaggctgatta	731	<0,50	ctggctatttctggactgc <b>ag</b> agcg aggacgaggccgacta	738	0,62
BCMA-52	agatacagcccgtccttcc <b>aa</b> ggc cacgtcaccatctcagc	732	<0,50	<b>ag</b> atacagccctagcttcc <b>agg</b> gcc acgtgaccatcagcgc	739	0,67

BCMA-55	cgaggctgattattactgc <b>ag</b> ctca aatacaagaagcagca	733	0,79	cgaggccgattactactgc <b>ag</b> cag caacacccgggccagca	740	<0,40
BCMA-55	gccctcaggggttctaat <b>cg</b> cttct ctggctccaagtctg	734	<0,50	gccagcggcgtgtccaat <b>ag</b> att cagcggcagcaagagcg	741	0,40
Спейсер-кодирующая						
	cgcttgtcctccttgtcc <b>ag</b> ctcct cctgttgccggacct	765	0,84	cgcttgtcctccttgtcc <b>cg</b> ctcct cctgttgccggacct	766	<0,7
	aagtttcttctgtattcc <b>ag</b> gctgac cgtggataaatctc	742	0,97	cagtttcttctgtatagt <b>ag</b> actcac cgtggataaatcaa	672	<0,7
	aagtttcttctgtattcc <b>ag</b> gctgac cgtggataaatctc	742	0,97	aagtttcttctgtattcc <b>ag</b> actgac cgtggataaatctc	854	
	gggcaacgtgttctcttgc <b>ag</b> tgct atgcacgaagccctgc	743	0,55	gggcaacgtgttcagctgc <b>ag</b> cgt gatgcacgagccctgc	673	<0,7
	cagtttcttctgtatagt <b>ag</b> actca ccgtggataaatcaa	767	0,74	без изменения		
CD28 ТМ - кодирующая						
	aggggtgctggcctgttac <b>ag</b> cct gctggtgacagtcgctt	744	0,4	cggagtgtggcctgttac <b>ag</b> cctg ctggttaccgtggcct	674	0,75

4-1BB/ CD3-дзета сигнальную область- кодирующая	gctgagagtcaagtttcc <b>aggtcc</b> gccgacgctccagcct	745	0,55	gctgagagtgaagttcagc <b>agatc</b> cgccgacgctccagcct	675	<0,7
Укороченный рецептор, суррогатный маркер - кодирующая						
	actcctcctctggatccac <b>aggaac</b> tggatattctgaaaac	746	0,74	acacctccactggatcccc <b>aagag</b> ctggatcctgaaaac	676	<0,7
	acagggttttgctgattc <b>aggcttg</b> gcctgaaaacaggac	747	0,73	accggattcctcctgatcc <b>aagcct</b> ggccagagaacagaac	677	<0,7
	accggattcctcctgattc <b>aggcct</b> ggccagagaacagaac	768	0,82	accggattcctcctgatcc <b>aagcct</b> ggccagagaacagaac	677	<0,7
	atggtcagtttctctgc <b>agtcgtca</b> gcctgaacataaca	748	0,89	acggccagtttagcctggct <b>gtgtgt</b> gtctctgaacatcacc	678	<0,7

[0346] В некоторых вариантах осуществления полученную модифицированную нуклеотидную последовательность(и) затем синтезируют и используют для трансдукции клеток с целью тестирования на сплайсинг, на который указывает гетерогенность РНК. Иллюстративные способы описаны в разделе «Примеры». Вкратце, РНК собирают из экспрессирующих клеток, амплифицируют методом полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР) и разделяют методом электрофореза в агарозном геле для определения гетерогенности РНК в сравнении с исходной последовательностью. В некоторых случаях усовершенствованные последовательности можно вновь передавать поставщику услуг по синтезу генов для дальнейшей кодон-оптимизации и удаления сайтов сплайсинга, с последующей дополнительной оценкой скрытых сайтов сплайсинга, модификацией, синтезом и тестированием до тех пор, когда РНК в агарозном геле продемонстрирует минимальную гетерогенность РНК.

[0347] В некоторых вариантах осуществления предложенные способы оптимизации кодирующей нуклеотидной последовательности, кодирующей трансген, такой как анти-BCMA CAR, предложенный в настоящем документе, или конструкт, предложенный в настоящем документе, служат как для уменьшения количества или элиминации скрытых сайтов сплайсинга (смотри, например, SEQ ID NO: 622 для иллюстративной кодон-оптимизированной и с удаленными сайтами сплайсинга последовательности спейсера), так и для оптимизации кодонов для использования у человека (смотри, например, SEQ ID NO: 855 для иллюстративной кодон-оптимизированной и спейсерной последовательности). Иллюстративная стратегия оптимизации описана в разделе «Примеры».

[0348] В некоторых вариантах осуществления предложены полинуклеотиды, кодирующие химерный антигенный рецептор, содержащие нуклеиновую кислоту, кодирующую: (а) внеклеточный антигенсвязывающий домен, который специфически узнает BCMA, включая любые из антигенсвязывающих доменов, описанных ниже; (b) спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот; (с) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область, при этом после экспрессии полинуклеотида в клетке транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит область VH и область VL, содержащие аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит область VH, которая представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из SEQ ID NO: 617; и область VL, которая представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из SEQ ID NO: 618. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно; или область VH, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617; и область VL, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618. В некоторых вариантах осуществления иллюстративный антигенсвязывающий домен в химерном антигенном рецепторе, закодированным полинуклеотидом, включает домены, приведенные в каждом ряду Таблицы 2 в настоящем документе. В любом из таких вариантов осуществления трансмембранный домен CAR представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD28; внутриклеточная сигнальная область содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент, и костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB.

[0349] В некоторых вариантах осуществления предложены полинуклеотиды, кодирующие химерный антигенный рецептор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, который специфически узнает ВСМА, включая любые из антигенсвязывающих доменов, описанных ниже; (b) (b) спейсер, при этом кодирующая нуклеиновая кислота представляет собой или содержит, или состоит из, или состоит в основном из, последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622, или кодирует аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит область VH и область VL, содержащие аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит область VH, которая представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из SEQ ID NO: 617; и область VL, которая представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в

аминокислотной последовательности области VL, выбранной из SEQ ID NO: 618. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VH, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617; и область VL, которая представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618. В некоторых вариантах осуществления иллюстративный антигенсвязывающий домен в химерном антигенном рецепторе, закодированным полинуклеотидом, включает домены, приведенные в каждом ряду Таблицы 2 в настоящем документе. В любом из таких вариантов осуществления трансмембранный домен CAR представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD28; внутриклеточная сигнальная область содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент, и костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB.

[0350] В настоящем документе также предложены иллюстративные модифицированные полинуклеотиды, включая полинуклеотиды, которые были модифицированы для кодон-оптимизации (О) и/или элиминации сайтов сплайсинга (ЭСС). Примеры таких полинуклеотидов приведены в Таблице 5, при этом показаны иллюстративные нуклеотидные (нт) последовательности для компонентов иллюстративных конструкторов CAR до элиминации сайтов сплайсинга и кодон-оптимизации (не-опт), нуклеотидные (нт) последовательности для компонентов конструкторов CAR после элиминации сайтов сплайсинга и оптимизации (О/ЭСС) и соответствующие аминокислотные (ак) последовательности, закодированные нуклеотидными последовательностями. Компоненты включают сигнальную последовательность IgG-каппа (сп), анти-BCMA scFv, область спейсера, трансмембранный (тм) домен, ко-сигнальную последовательность (4-1BB ко-сиг или CD28 ко-сиг), сигнальный домен CD3- $\zeta$  (CD3- $\zeta$ ), элемент проскока рибосомы T2A (T2A) и

последовательность укороченного рецептора EGF (EGFRt). Полинуклеотидные последовательности иллюстративных конструкторов CAR приведены в SEQ ID NO: 751-756, кодирующих аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 757-762.

<b>Таблица 5. Иллюстративные компоненты анти-BCMA CAR (SEQ ID NO)</b>							
Конструктор	Последовательность	сп	scFv	спейсер	ТМ	4-1BB ко-стим	CD3- ζ
BCMA-23-Д CAR	не-опт (нт)	619	352	621	623	625	627
BCMA-23-Д CAR КО/ЭСС	О/ЭСС (нт)	684	715	622 или 856	688	681	652
оба	ак	620	278	649	624	626	628
BCMA-25-Д CAR	не-опт (нт)	619	716	621	623	625	627
BCMA-25-Д CAR КО/ЭСС	О/ЭСС (нт)	682	717	622 или 856	688	681	652
оба	ак	620	559	649	624	626	628
BCMA-26-Д CAR	не-опт (нт)	619	718	621	623	625	627
BCMA-26-Д CAR КО/ЭСС	О/ЭСС (нт)	685	719	622 или 856	688	681	652
оба	ак	620	560	649	624	626	628
BCMA-52-Д CAR	не-опт (нт)	619	647	621	623	625	627
BCMA-52-Д CAR КО/ЭСС	О/ЭСС (нт)	682	440	622 или 856	688	681	652
оба	ак	620	442	649	624	626	628
BCMA-55-Д CAR	не-опт (нт)	619	648	621	623	625	627
BCMA-55-Д CAR КО/ЭСС	О/ЭСС (нт)	683	460	622 или 856	688	681	652
оба	ак	620	478	649	624	626	628
Конструктор	Последовательность	сп	scFv	спейсер	ТМ	CD28 ко-стим	CD3- ζ

BCMA-55-L- CD28 CAR	не-опт (нт)	619	648	621	623	679	627
BCMA-55-L- CD28 CAR KO/ЭСС	O/ЭСС (нт)	683	460	622	688	679	652
оба	ак	620	478	649	624	680	628

### III. ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ

[0351] Также предложены клетки, такие как генетически модифицированные клетки, содержащие рекомбинантный рецептор (например, химерный антигенный рецептор), например, рецептор, содержащий внеклеточный домен, содержащий анти-BCMA антитело, или фрагмент, описанное в настоящем документе. Также предложены популяции таких клеток, композиции, содержащие такие клетки и/или обогащенные такими клетками, например, в которых клетки, экспрессирующие BCMA-связывающую молекулу, составляют по меньшей мере 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, или более, процентов от общего количества клеток в композиции или клеток определенного типа, таких как Т-клетки, или CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> клетки. В число композиций входят фармацевтические композиции и препараты для введения, например, для адоптивной клеточной терапии. Также предложены терапевтические способы введения клеток и композиций субъектам, например, пациентам.

[0352] Таким образом, также предложены генетически модифицированные клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы, содержащие антитела, например, клетки, содержащие CAR. Клетки, как правило, представляют собой эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих, и, как правило, представляют собой человеческие клетки. В некоторых вариантах осуществления клетки получены из крови, костного мозга, лимфатических или лимфоидных органов, являются клетками иммунной системы, например, клетками, обеспечивающими врожденный или адаптивный иммунитет, например, миелоидными или лимфоидными клетками, включая лимфоциты, как правило, Т-клетки и/или НК-клетки. Другие иллюстративные клетки включают стволовые клетки, такие как мультипотентные и плюрипотентные стволовые клетки, включая индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК). Клетки, как правило, представляют собой первичные клетки, такие как клетки, полученные непосредственно от субъекта и/или полученные от субъекта и замороженные. В некоторых вариантах осуществления клетки включают одну или более подгрупп Т-клеток или клетки другого типа, например, общие популяции Т-клеток, CD4<sup>+</sup> клетки, CD8<sup>+</sup> клетки и их субпопуляции, такие, которые определяются функцией, состоянием активации, зрелостью, потенциалом дифференциации, способностями к размножению, рециркуляции, локализации и/или персистенции, антигенной специфичностью, типом антигенного рецептора, присутствием в конкретном органе или компартменте, маркером или профилем секреции цитокинов и/или степенью дифференциации. Применительно к субъекту, который будет получать лечение,

клетки могут быть аллогенными и/или аутологичными. Способы включают стандартные способы. В некоторых аспектах, например, в случае стандартных технологий, клетки являются плюрипотентными и/или мультипотентными, например, стволовыми клетками, например, индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками (иПСК). В некоторых вариантах осуществления способы включают получение клеток от субъекта, их подготовку, обработку, культивирование и/или генетическую модификацию, как описано в настоящем документе, и повторное введение их тому же пациенту, до или после криоконсервирования.

[0353] В число подтипов и субпопуляций Т-клеток и/или CD4+, и/или CD8+ Т-клеток входят наивные Т-клетки ( $T_N$ ), эффекторные Т-клетки ( $T_{EFF}$ ), Т-клетки памяти и их подтипы, такие как стволовые Т-клетки памяти ( $T_{SCM}$ ), центральные Т-клетки памяти ( $T_{CM}$ ), эффекторные Т-клетки памяти ( $T_{EM}$ ) или окончательно дифференцированные эффекторные Т-клетки памяти, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (ОИЛ), незрелые Т-клетки, зрелые Т-клетки, хелперные Т-клетки, цитотоксические Т-клетки, мукозальные инвариантные Т-клетки (MAIT), врожденные и адаптивные регуляторные Т-клетки (Treg), хелперные Т-клетки, такие как TH1 клетки, TH2 клетки, TH3 клетки, TH17 клетки, TH9 клетки, TH22 клетки, фолликулярные хелперные Т-клетки, альфа/бета Т-клетки и дельта/гамма Т-клетки.

[0354] В некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой клетки - естественные киллеры (NK). В некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой моноциты или гранулоциты, например, миелоидные клетки, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, тучные клетки, эозинофилы и/или базофилы.

[0355] В некоторых вариантах осуществления клетки содержат один или более полинуклеотидов, введенных методами генетической инженерии, и вследствие этого экспрессируют рекомбинантные или генетически модифицированные продукты таких полинуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды являются гетерологичными, то есть, обычно не присутствующими в клетке или в образце, полученном из клетки, например, полученными из другого организма или клетки, например, обычно не встречающимися в клетках, которые генетически модифицируют, и/или в организме, из которого клетки получены. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды являются неприродными, например, являются полинуклеотидами, не встречающимися в природе, включая те, которые содержат химерные комбинации полинуклеотидов, кодирующих разные домены из клеток нескольких разных типов. В некоторых вариантах осуществления клетки (например, генетически модифицированные клетки) содержат вектор (например, вирусный вектор, экспрессионный вектор и так далее), описанный в настоящем документе, например, вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую рекомбинантный рецептор, описанный в настоящем документе.

#### **А. Векторы и способы генетической модификации**

[0356] Также предложены способы, полинуклеотиды, композиции и наборы для экспрессии связывающих молекул (например, анти-ВСМА связывающих молекул),

включая рекомбинантные рецепторы (например, CAR), содержащие связывающие молекулы, а также для получения генетически модифицированных клеток, экспрессирующих такие связывающие молекулы. В некоторых вариантах осуществления одна или более связывающих молекул, включая рекомбинантные рецепторы (например, CAR), могут быть введены методами генной инженерии в клетки или во множество клеток. Генетическая модификация, как правило, включает введение нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантный или генетически модифицированный компонент, в клетку, например, путем ретровирусной трансдукции, трансфекции или трансформации.

[0357] Также предложены полинуклеотиды, кодирующие химерные антигенные рецепторы и/или их фрагменты, например, цепи. В число предложенных полинуклеотидов входят полинуклеотиды, кодирующие анти-BCMA химерные антигенные рецепторы (например, антигенсвязывающие фрагменты), описанные в настоящем документе. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие одно или более антител и/или их фрагментов, например, полинуклеотиды, кодирующие одно или более из анти-BCMA антител (например, антигенсвязывающих фрагментов), описанных в настоящем документе, и/или другие антитела и/или их фрагменты, например, антитела и/или их фрагменты, которые связывают другие антигены-мишени. Полинуклеотиды могут включать полинуклеотиды, содержащие природные и/или неприродные нуклеотиды и основания, например, имеющие модификации каркаса. Термины «молекула нуклеиновой кислоты», «нуклеиновая кислота» и «полинуклеотид» могут быть использованы взаимозаменяемо и означают полимер нуклеотидов. Такие полимеры нуклеотидов могут содержать природные и/или неприродные нуклеотиды, и включают, но без ограничения, ДНК, РНК и БНК. «Нуклеотидная последовательность» означает линейную последовательность нуклеотидов, составляющую молекулу нуклеиновой кислоты или полинуклеотид.

[0358] Также предложены полинуклеотиды, которые были оптимизированы для использования кодонов и/или для элиминации сайтов сплайсинга, таких как скрытые сайты сплайсинга. Также предложены способы оптимизации и получения кодирующих последовательностей химерных антигенных рецепторов, например, любых из химерных антигенных рецепторов, описанных в настоящем документе. Такие способы описаны в разделе II в настоящем документе.

[0359] Также предложены векторы, содержащие полинуклеотиды, например, любые из полинуклеотидов, описанных в настоящем документе, и клетки-хозяева, содержащие векторы, например, для продуцирования антител или их антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор. Также предложены способы получения антител или их антигенсвязывающих фрагментов. Нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность, составляющую область VL, и/или аминокислотную последовательность, составляющую область VH антитела (например, легкой и/или тяжелой цепей антитела). Нуклеиновая кислота может кодировать одну или более аминокислотных

последовательностей, содержащих область VL, и/или аминокислотных последовательностей, содержащих область VH антитела (например, легкой и/или тяжелой цепей антитела). В следующем варианте осуществления предложены один или более векторов (например, экспрессионных векторов), содержащих такие полинуклеотиды. В следующем варианте осуществления предложена клетка-хозяин, содержащая такие полинуклеотиды. В одном таком варианте осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансформирована) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, составляющую область VH антитела. В другом таком варианте осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансформирована) (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, составляющую область VL антитела, и аминокислотную последовательность, составляющую область VH антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, составляющую область VL антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, составляющую область VH антитела. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансформирована) один или более векторов, содержащих одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих одну или более аминокислотных последовательностей, составляющих одно или более антител и/или их фрагментов, например, их антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления предложены одна или более таких клеток-хозяев. В некоторых вариантах осуществления предложена композиция, содержащая одну или более таких клеток-хозяев. В некоторых вариантах осуществления одна или более клеток-хозяев могут экспрессировать разные антитела или одно и то же антитело. В некоторых вариантах осуществления каждая из клеток-хозяев может экспрессировать более одного антитела.

[0360] Также предложены способы получения анти-ВСМА химерных антигенных рецепторов. Для рекомбинантного продуцирования химерных рецепторов нуклеотидная последовательность, кодирующая химерный рецептор антитела, например, описанный в настоящем документе, может быть выделена и вставлена в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такие нуклеотидные последовательности могут быть с легкостью выделены и секвенированы общепринятыми методами (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, способных связывать специфически гены, кодирующие тяжелую и легкую цепи антитела). В некоторых вариантах осуществления предложен способ получения анти-ВСМА химерного антигенного рецептора, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, описанную выше, в условиях, подходящих для экспрессии рецептора.

[0361] В некоторых аспектах для продуцирования выделяемых или секретлируемых полипептидов подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии кодирующих антитела векторов, помимо прокариот, являются эукариотические микроорганизмы, такие

как нитчатые грибы или дрожжи, включая штаммы грибов и дрожжей, пути гликозилирования у которых были модифицированы для имитации или аппроксимации таких путей в человеческих клетках, что приводит к получению антител с паттерном гликозилирования, полностью или частично соответствующим таковому у человека. Смотри Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004) и Li *et al.*, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006).

[0362] Иллюстративные эукариотические клетки, которые могут быть использованы для экспрессии полипептидов, включая выделяемые или секретируемые полипептиды, включают, но без ограничения, клетки COS, в том числе клетки COS7; клетки 293, включая клетки 293-6E; клетки CHO, включая клетки CHO-S, DG44, клетки Lec13 CHO и клетки FUT8 CHO; клетки PER.C6<sup>®</sup> и клетки NSO. В некоторых вариантах осуществления тяжелые цепи и/или легкие цепи антитела (например, область VH и/или область VL) могут быть экспрессированы в дрожжах. Смотри, например, публикацию патента США № 2006/0270045 A1. В некоторых вариантах осуществления конкретную эукариотическую клетку-хозяина выбирают на основании ее способности осуществлять нужные посттрансляционные модификации тяжелых цепей и/или легких цепей (например, области VH и/или области VL). Например, в некоторых вариантах осуществления клетки CHO продуцируют полипептиды, имеющие более высокий уровень сиапирования, чем такой же полипептид, продуцируемый в клетках 293.

[0363] В конкретных примерах иммунные клетки, такие как человеческие иммунные клетки, используют для экспрессии предложенных полипептидов, кодирующих химерные антигенные рецепторы. В некоторых примерах иммунные клетки представляют собой Т-клетки, такие как CD4<sup>+</sup> и/или CD8<sup>+</sup> иммунные клетки, включая первичные клетки, такие как первичные CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клетки.

[0364] В некоторых вариантах осуществления перенос генов осуществляют, сначала стимулируя клетку, например, путем объединения ее со стимулом, который вызывает ответ, такой как пролиферация, выживание и/или активация, например, при измерении на основании экспрессии цитокина или маркера активации, с последующей трансдукцией активированных клеток и размножением их в культуре до количеств, достаточных для клинического применения.

[0365] В некоторых контекстах избыточная экспрессия стимулирующего фактора (например, лимфокина или цитокина) может быть токсичной для субъекта. Таким образом, в некоторых контекстах генетически модифицированные клетки содержат генные сегменты, которые обеспечивают подверженность клеток отрицательной селекции *in vivo*, например, после введения при адоптивной иммунотерапии. Например, в некоторых аспектах клетки генетически модифицируют таким образом, что они могут быть элиминированы в результате изменения *in vivo* условий у пациента, которому они введены. Подверженный отрицательной селекции фенотип может являться результатом введения гена, придающего чувствительность к введенному средству, например, соединению. Обеспечивающие отрицательную селекцию гены включают ген тимидинкиназы вируса

простого герпеса I типа (HSV-I TK) (Wigler *et al.*, Cell 2:223, 1977), который придает чувствительность к ганцикловиру; ген клеточной гипоксантин-фосфорибозилтрансферазы (HPRT), ген клеточной аденин-фосфорибозилтрансферазы (APRT), ген бактериальной цитозин-дезаминазы, (Mullen *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:33 (1992)).

[0366] В некоторых аспектах клетки также генетически модифицируют для стимуляции экспрессии цитокинов или других факторов. Различные методы введения генетически модифицированных компонентов, например, антигенных рецепторов, например, CAR, хорошо известны и могут быть использованы с предложенными способами и композициями. Иллюстративные способы включают способы переноса полинуклеотидов, кодирующих рецепторы, в том числе методом вирусной, например, ретровирусной или лентивирусной, трансдукции, с использованием транспозонов и электропорации.

[0367] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные полинуклеотиды переносят в клетки с использованием рекомбинантных инфекционных вирусных частиц, таких как, например, векторы, полученные из обезьяньего вируса 40 (SV40), аденовирусов, аденоассоциированного вируса (AAV). В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные полинуклеотиды переносят в T-клетки с использованием рекомбинантных лентивирусных векторов или ретровирусных векторов, таких как гамма-ретровирусные векторы (смотри, например, Koste *et al.* (2014) Gene Therapy 2014 Apr 3. doi: 10.1038/gt.2014.25; Carlens *et al.* (2000) Exp Hematol 28(10): 1137-46; Alonso-Camino *et al.* (2013) Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park *et al.*, Trends Biotechnol. 2011 November 29(11): 550-557).

[0368] В некоторых вариантах осуществления ретровирусный вектор содержит последовательность длинного концевой повтора (LTR), например, ретровирусный вектор, полученный из вируса мышинового лейкоза Молони (MoMLV), вируса миелопролиферативной саркомы (MPSV), вируса мышинных эмбриональных стволовых клеток (MESV), вируса мышинных стволовых клеток (MSCV), вируса некроза селезенки (SFFV) или вируса иммунодефицита человека 1 типа (HIV-1). Большинство ретровирусных векторов получены из мышинных ретровирусов. В некоторых вариантах осуществления ретровирусы включают те, которые получены из клеток любых птиц или млекопитающих. Ретровирусы, как правило, являются амфотропными, это означает, что они способны инфицировать клетки-хозяева нескольких видов, включая человека. В одном варианте осуществления ген, который будет экспрессироваться, заменяет последовательности ретровирусных генов gag, pol и/или env. Были описаны различные иллюстративные ретровирусные системы (смотри, например, патенты США №№ 5219740; 6207453; 5219740; Miller and Rosman (1989) BioTechniques 7:980-990; Miller, A. D. (1990) Human Gene Therapy 1:5-14; Scarpa *et al.* (1991) Virology 180:849-852; Burns *et al.* (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8033-8037; и Boris-Lawrie and Temin (1993) Cur. Opin. Genet. Develop. 3:102-109.

[0369] Методы лентивирусной трансдукции известны. Иллюстративные методы описаны, например, в публикациях Wang *et al.* (2012) J. Immunother. 35(9): 689-701; Cooper *et al.* (2003) Blood. 101:1637-1644; Verhoeven *et al.* (2009) Methods Mol Biol. 506: 97-114; и

Cavalieri *et al.* (2003) *Blood*. 102(2): 497-505.

[0370] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные полинуклеотиды переносят в Т-клетки методом электропорации (смотри, например, Chicaibam *et al.* (2013) *PLoS ONE* 8(3): e60298 и Van Tedeloo *et al.* (2000) *Gene Therapy* 7(16): 1431-1437). В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные полинуклеотиды переносят в Т-клетки методом транспозиции (смотри, например, Manuri *et al.* (2010) *Hum Gene Ther* 21(4): 427-437; Sharma *et al.* (2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2, e74; и Huang *et al.* (2009) *Methods Mol Biol.* 506: 115-126). Другие методы введения и экспрессии генетического материала в иммунных клетках включают трансфекцию с фосфатом кальция (например, как описано в *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, N.Y.), слияние протопластов, опосредованную катионными липосомами трансфекцию; бомбардировку микрочастицами вольфрама (Johnston, *Nature*, 346: 776-777 (1990)) и совместное осаждение ДНК с фосфатом стронция (Brash *et al.*, *Mol. Cell Biol.*, 7: 2031-2034 (1987)).

[0371] Другие подходы и векторы для переноса полинуклеотидов, кодирующих рекомбинантные продукты, описаны, например, в публикации международной патентной заявки № WO2014055668 и патенте США № 7446190.

[0372] В число дополнительных полинуклеотидов, например, генов для введения, входят те, которые повышают эффективность терапии, например, за счет стимуляции жизнеспособности и/или функции клеток, в которые их переносят; гены маркера для селекции и/или оценки клеток, например, для оценки выживания или локализации *in vivo*; гены для повышения безопасности, например, делающие клетки подверженными отрицательной селекции *in vivo*, как описано в публикациях Lupton S. D. *et al.*, *Mol. and Cell Biol.*, 11:6 (1991); и Riddell *et al.*, *Human Gene Therapy* 3:319-338 (1992); смотри также публикации PCT/US91/08442 и PCT/US94/05601 авторов Lupton *et al.*, в которых описано применение бифункциональных селективных слитых генов, полученных в результате слияния доминантно положительного селективного маркера с отрицательным селективным маркером. Смотри, например, Riddell *et al.*, патент США № 6040177 в колонках 14-17.

[0373] В некоторых вариантах осуществления одна или более связывающих молекул, включая антитела и/или рекомбинантные рецепторы (например, CAR), могут быть генетически модифицированы для экспрессии в клетках или множестве клеток. В некоторых вариантах осуществления первый рекомбинантный рецептор и вторая связывающая молекула, например, рекомбинантный рецептор, закодированы одной и той же, или отдельными молекулами нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления дополнительные связывающие молекулы генетически модифицированы для экспрессии в клетках или множестве клеток.

[0374] В некоторых случаях полинуклеотид, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие ВСМА-связывающий рецептор, например, химерный антигенный рецептор (CAR), содержит сигнальную последовательность, кодирующую сигнальный пептид. В некоторых аспектах сигнальная последовательность может кодировать сигнальный пептид, полученный из природного полипептида. В других

аспектах сигнальная последовательность может кодировать гетерологичный или неприродный сигнальный пептид. В некоторых аспектах неограничивающие иллюстративные примеры сигнальных пептидов включают, например, сигнальный пептид каппа-цепи IgG с SEQ ID NO: 620 или закодированный нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 619 или 682-685; сигнальный пептид альфа-цепи GMCSFR с SEQ ID NO: 851 и закодированный нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 850; сигнальный пептид альфа-цепи CD8 с SEQ ID NO: 852; или сигнальный пептид CD33 с SEQ ID NO: 853.

[0375] В некоторых вариантах осуществления вектор или конструктор может содержать промотор и/или энхансер или регуляторные элементы для регуляции экспрессии закодированного рекомбинантного рецептора. В некоторых примерах промотор и/или энхансер, или регуляторные элементы могут представлять собой зависимые от условий промоторы, энхансеры и/или регуляторные элементы. В некоторых примерах эти элементы управляют экспрессией трансгена. В некоторых примерах трансген CAR может быть функционально связан с промотором, таким как промотор EF1-альфа с энхансером HTLV1 (SEQ ID NO: 635). В некоторых примерах трансген CAR функционально связан с посттранскрипционным регуляторным элементом вируса гепатита сурков (WHP) (WPRE; SEQ ID NO: 636), расположенным ниже трансгена по ходу транскрипции.

[0376] В некоторых вариантах осуществления вектор или конструктор может содержать один промотор, который управляет экспрессией одной или более молекул нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления такие молекулы нуклеиновой кислоты, например, транскрипты, могут быть мультицистронными (бицистронными или трицистронными, смотри, например, патент США № 6060273). Например, в некоторых вариантах осуществления транскрипционные единицы могут быть генетически модифицированы в виде бицистронной единицы, содержащей IRES (внутренний участок связывания рибосомы), который делает возможной совместную экспрессию генных продуктов с матрицы с одним промотором. Альтернативно, в некоторых случаях один промотор может управлять экспрессией РНК, которая содержит в одной открытой рамке считывания (ORF) два или три гена (например, кодирующие первую и вторую связывающие молекулы, например, антитело рекомбинантного рецептора), отделенные друг от друга последовательностями, кодирующими саморасщепляемый пептид (например, расщепляемыми последовательностями 2A) или сайт узнавания протеазы (например, фурина). Таким образом, ORF кодирует один полипептид, который, либо в процессе (в случае 2A), либо после трансляции, разделяется на отдельные белки. В некоторых случаях пептид, такой как T2A, может вызывать пропуск рибосомой (проскок рибосомы) синтеза пептидной связи на С-конце элемента 2A, что приводит к разделению между концом последовательности 2A и следующим далее по ходу транскрипции пептидом (смотри, например, de Felipe. *Genetic Vaccines and Ther.* 2:13 (2004) и de Felipe *et al.* *Traffic* 5:616-626 (2004)). Известно множество элементов 2A. Примеры последовательностей 2A, которые могут быть использованы в способах и полинуклеотидах, раскрытых в настоящем

документе, включают, без ограничения, последовательности 2А из вируса ящура (F2А, например, SEQ ID NO: 659 или 660), вируса ринита А лошадей (E2А, например, SEQ ID NO: 657 или 658), вируса *Thosea asigna* (T2А, например, SEQ ID NO: 631, 653 или 654) и тешовируса-1 свиней (P2А, например, SEQ ID NO: 655 или 656), как описано в патентной публикации США № 20070116690. В некоторых вариантах осуществления один или более разных или отдельных промоторов управляют экспрессией одной или более молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих одну или более связывающих молекул, например, рекомбинантные рецепторы.

[0377] Любые из связывающих молекул, например, антител и/или рекомбинантных рецепторов, предложенных в настоящем документе, например, ВСМА-связывающие молекулы и/или дополнительные рекомбинантные рецепторы, могут быть закодированы полинуклеотидами, содержащими одну или более молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих рецепторы, в любых сочетаниях или аранжировках. Например, один, два, три или более полинуклеотидов могут кодировать один, два, три или более разных рецепторов или доменов. В некоторых вариантах осуществления один вектор или конструкт содержит молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие одну или более связывающих молекул, например, антител и/или рекомбинантных рецепторов, и отдельный вектор или конструкт содержит молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие дополнительную связывающую молекулу, например, антитело и/или рекомбинантный рецептор. Каждая из молекул нуклеиновой кислоты также может кодировать один или более маркеров, таких как поверхностный маркер, например, укороченный EGFR (tEGFR).

[0378] Также предложены композиции, содержащие одну или более молекул нуклеиновой кислоты, векторы или конструкты, такие как описанные выше. В некоторых вариантах осуществления молекулы нуклеиновой кислоты, векторы, конструкты или композиции могут быть использованы для генетической модификации клеток, например, Т-клеток, для экспрессии любой из связывающих молекул, например, антитела или рекомбинантного рецептора и/или дополнительных связывающих молекул.

#### **В. Подготовка клеток для генетической модификации**

[0379] В некоторых вариантах осуществления получение генетически модифицированных клеток включает один или более этапов культивирования и/или подготовки. Клетки для введения рекомбинантного рецептора (например, CAR) могут быть выделены из образца, такого как биологический образец, например, образец, полученный или извлеченный из субъекта. В некоторых вариантах осуществления субъект, от которого получают клетки, является субъектом, который имеет заболевание или состояние, или нуждается в клеточной терапии, или который будет получать клеточную терапию. В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком, который нуждается в конкретном терапевтическом вмешательстве, таком как адоптивная клеточная терапия, для которой клетки выделяют, обрабатывают и/или генетически модифицируют.

[0380] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой первичные клетки, например, первичные человеческие клетки. Образцы включают

ткани, жидкости и другие образцы, полученные непосредственно от субъекта, а также образцы, полученные после одного или более этапов обработки, такой как разделение, центрифугирование, генетическая модификация (например, трансдукция вирусным вектором), промывание и/или инкубация. Биологический образец может представлять собой образец, полученный непосредственно из биологического источника, или образец, который был обработан. Биологические образцы включают, но без ограничения, жидкости организма, такие как кровь, плазма, сыворотка, цереброспинальная жидкость, синовиальная жидкость, моча и пот, образцы тканей и органов, включая обработанные образцы, полученные из них.

[0381] В некоторых аспектах образец, из которого клетки получают или выделяют, представляет собой кровь или полученный из крови образец, или представляет собой продукт, или получен путем, афереза или лейкоафереза. Иллюстративные образцы включают цельную кровь, мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), лейкоциты, костный мозг, тимус, биопсийный образец ткани, опухоль, клетки лейкоза, лимфомы, лимфатический узел, кишечную лимфоидную ткань, мукозную лимфоидную ткань, селезенку, другие лимфоидные ткани, печень, легкое, желудок, кишечник, толстую кишку, почку, поджелудочную железу, молочную железу, кость, предстательную железу, шейку матки, яички, яичники, миндалины или другие органы и/или клетки, полученные из них. Образцы включают, в контексте клеточной терапии, например, адоптивной клеточной терапии, образцы из аутологичных и аллогенных источников.

[0382] В некоторых вариантах осуществления клетки получают из клеточных линий, например, Т-клеточных линий. В некоторых вариантах осуществления клетки получают из ксеногенного источника, например, от мыши, крысы, примата или свиньи.

[0383] В некоторых вариантах осуществления выделение клеток включает один или более этапов подготовки и/или не аффинного разделения клеток. В некоторых примерах клетки промывают, центрифугируют и/или инкубируют в присутствии одного или более реагентов, например, для удаления нежелательных компонентов, обогащения по желательным компонентам, лизиса или удаления клеток, чувствительных к конкретным реагентам. В некоторых примерах клетки разделяют на основе одного или более свойств, таких как плотность, адгерентность, размер, чувствительность и/или устойчивость к конкретным компонентам.

[0384] В некоторых примерах клетки из циркулирующей крови субъекта получают, например, путем афереза или лейкоафереза. В некоторых аспектах образцы содержат лимфоциты, включая Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядродержащие белые клетки крови, эритроциты и/или тромбоциты, и в некоторых аспектах содержат клетки, отличные от эритроцитов и тромбоцитов.

[0385] В некоторых вариантах осуществления клетки крови, полученные от субъекта, промывают, например, для удаления фракции плазмы и для переноса клеток в соответствующий буфер или среду для последующих этапов обработки. В некоторых вариантах осуществления клетки промывают фосфатно-солевым буфером (PBS). В

некоторых вариантах осуществления промывочный раствор не содержит кальций и/или магний, и/или многие, или все, из двухвалентных катионов. В некоторых аспектах этап промывания проводят с использованием полуавтоматической «проточной» центрифуги (например, клеточного процессора Cobe 2991, Baxter) в соответствии с инструкциями производителя. В некоторых аспектах этап промывания проводят методом проточной фильтрации вдоль потока (TFF) в соответствии с инструкциями производителя. В некоторых вариантах осуществления клетки ресуспендируют в различных биосовместимых буферах после промывания, таких как, например, не содержащий  $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$  PBS. В конкретных вариантах осуществления компоненты образца клеток крови удаляют, и клетки непосредственно ресуспендируют в среде для культивирования.

[0386] В некоторых вариантах осуществления методы включают методы разделения на основе плотности, например, получение белых клеток крови из периферической крови путем лизиса эритроцитов и центрифугирования через градиент плотности перколла или фиколла.

[0387] В некоторых вариантах осуществления методы выделения включают разделение клеток разных типов на основе экспрессии или наличия в клетке одной или более конкретных молекул, таких как поверхностные маркеры, например, поверхностные белки, внутриклеточные маркеры или нуклеиновая кислота. В некоторых вариантах осуществления можно использовать любой известный метод разделения на основе таких маркеров. В некоторых вариантах осуществления разделение представляет собой разделение на основе аффинности или иммунной аффинности. Например, в некоторых аспектах выделение включает разделение клеток и клеточных популяций на основе клеточной экспрессии, или уровня экспрессии, одного или более маркеров, как правило, клеточных поверхностных маркеров, например, путем инкубации с антителом или связывающим партнером, специфически связывающим такие маркеры, за которой, как правило, следуют этапы промывания и отделения клеток, связанных с антителом или связывающим партнером, от клеток, не связанных с антителом или связывающим партнером.

[0388] Такие этапы разделения могут быть основаны на положительной селекции, при которой клетки, связавшиеся с реагентами, сохраняют для дальнейшего использования, и/или отрицательной селекции, при которой сохраняют клетки, не связавшиеся с антителом или связывающим партнером. В некоторых примерах обе фракции сохраняют для дальнейшего использования. В некоторых аспектах может быть особенно полезной отрицательная селекция, когда отсутствует антитело, специфически узнающее тип клеток в гетерогенной популяции, так что разделение лучше всего проводить на основе маркеров, экспрессируемых клетками, отличными от желательной популяции.

[0389] Разделение не обязательно должно приводить к 100% обогащению или удалению конкретных клеточных популяций или клеток, экспрессирующих конкретный маркер. Например, положительная селекция или обогащение для клеток конкретного типа, таких как те, которые экспрессируют маркер, означает увеличение числа или процентной

доли таких клеток, но не обязательно приводит к полному отсутствию клеток, не экспрессирующих маркер. Аналогично, отрицательная селекция, удаление или истощение клеток конкретного типа, таких как те, которые экспрессируют маркер, означает уменьшение числа или процентной доли таких клеток, но не обязательно приводит к полному удалению всех таких клеток.

[0390] В некоторых примерах проводят несколько раундов этапов разделения, при этом положительно или отрицательно отобранную фракцию из одного этапа подвергают этапу разделения, например, последующей положительной или отрицательной селекции. В некоторых примерах один этап разделения может приводить к одновременному истощению клеток, экспрессирующих несколько маркеров, например, путем инкубации клеток с несколькими антителами или связывающими партнерами, каждый из которых специфичен для маркера, являющегося мишенью для отрицательной селекции. Аналогично, клетки нескольких типов могут быть одновременно положительно отобраны путем инкубации клеток с несколькими антителами или связывающими партнерами, специфичными для маркеров, экспрессируемых на клетках разных типов.

[0391] Например, в некоторых аспектах конкретные субпопуляции Т-клеток, таких как клетки, имеющие или экспрессирующие на высоких уровнях один или более поверхностных маркеров, например, CD28<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CCR7<sup>+</sup>, CD27<sup>+</sup>, CD127<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup> и/или CD45RO<sup>+</sup> Т-клетки, выделяют методами положительной и отрицательной селекции.

[0392] Например, CD3<sup>+</sup>, CD28<sup>+</sup> Т-клетки можно положительно отбирать с использованием конъюгированных с анти-CD3/анти-CD28 магнитных гранул (например, DYNABEADS<sup>®</sup> M-450 CD3/CD28 T Cell Expander, MACSiBeads<sup>™</sup> и так далее).

[0393] В некоторых вариантах осуществления выделение проводят путем обогащения по конкретной клеточной популяции методом положительной селекции, или истощения конкретной клеточной популяции методом отрицательной селекции. В некоторых вариантах осуществления положительную или отрицательную селекцию проводят путем инкубации клеток с одним или более антителами или другими связывающими веществами, которые специфически связывают один или более поверхностных маркеров, экспрессируемых (маркер<sup>+</sup>), или экспрессируемых на относительно высоком уровне (маркер<sup>high</sup>), на положительно или отрицательно отбираемых клетках, соответственно.

[0394] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки выделяют из образца МКПК путем отрицательной селекции на маркеры, экспрессируемые на не Т-клетках, таких как В-клетки, моноциты или другие белые клетки крови, такие как CD14 клетки. В некоторых аспектах этапы селекции на CD4<sup>+</sup> или CD8<sup>+</sup> используют для разделения CD4<sup>+</sup> хелперов и CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-клеток из композиции, например, из композиции МКПК, например, полученной путем лейкофереза. В некоторых аспектах такие CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> популяции можно дополнительно сортировать на субпопуляции методом положительной или отрицательной селекции на маркеры, экспрессируемые, или экспрессируемые в

относительно высокой степени, на клетках одной или более субпопуляций наивных Т-клеток, Т-клеток памяти и/или эффекторных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клетки смешивают в нужном соотношении.

[0395] В некоторых вариантах осуществления CD8<sup>+</sup> клетки дополнительно обогащают или истощают по наивным клеткам, центральным клеткам памяти, эффекторным клеткам памяти и/или центральным стволовым клеткам памяти, например, путем положительной или отрицательной селекции на основе поверхностных антигенов, ассоциированных с соответствующей субпопуляцией. В некоторых вариантах осуществления обогащение по центральным Т-клеткам памяти (T<sub>CM</sub>) проводят для повышения эффективности, например, для повышения долгосрочной выживаемости, размножения и/или приживления после введения, что в некоторых аспектах является особенно сильным в таких субпопуляциях. См. Terakura *et al.* (2012) *Blood*. 1:72-82; Wang *et al.* (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701. В некоторых вариантах осуществления объединение T<sub>CM</sub>-обогащенных CD8<sup>+</sup> Т-клеток и CD4<sup>+</sup> Т-клеток дополнительно повышает эффективность.

[0396] В вариантах осуществления Т-клетки памяти присутствуют в обоих CD62L<sup>+</sup> и CD62L<sup>-</sup> подмножествах CD8<sup>+</sup> лимфоцитов периферической крови. МКПК можно обогащать или истощать по CD62L<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> и/или CD62L<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> фракциям, например, с использованием анти-CD8 и анти-CD62L антител.

[0397] В некоторых вариантах осуществления обогащение по центральным Т-клеткам памяти (T<sub>CM</sub>) основано на наличии, или высокой поверхностной экспрессии, CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 и/или CD127; в некоторых аспектах оно основано на отрицательной селекции на клетки, экспрессирующие, или в высокой степени экспрессирующие, CD45RA и/или гранзим В. В некоторых аспектах выделение CD8<sup>+</sup> популяции, обогащенной по T<sub>CM</sub> клеткам, проводят путем истощения по клеткам, экспрессирующим CD4, CD14, CD45RA, и положительной селекции, или обогащения, по клеткам, экспрессирующим CD62L. В одном аспекте обогащение по центральным Т-клеткам памяти (T<sub>CM</sub>) проводят, начиная с отрицательной фракции клеток, отобранных на основе экспрессии CD4, которую подвергают отрицательной селекции на основе экспрессии CD14 и CD45RA, и положительной селекции на основе CD62L. В некоторых аспектах такие виды селекции проводят одновременно, и в других аспектах проводят последовательно, в любом порядке. В некоторых аспектах тот же этап селекции на основе экспрессии CD4, который используют для получения популяции или субпопуляции CD8<sup>+</sup> клеток, также используют для получения популяции или субпопуляции CD4<sup>+</sup> клеток, так что как положительную, так и отрицательную, фракции, полученные при разделении на основе CD4, сохраняют и используют в последующих этапах способа, необязательно, после одного или более дополнительных этапов положительной или отрицательной селекции.

[0398] В конкретном примере образец МКПК или другой образец белых клеток крови подвергают селекции на CD4<sup>+</sup> клетки, при этом сохраняют как отрицательную, так и положительную, фракции. Отрицательную фракцию затем подвергают отрицательной

селекции на основе экспрессии CD14 и CD45RA, и положительной селекции на основе маркера, характерного для центральных Т-клеток памяти, такого как CD62L или CCR7, при этом положительную и отрицательную селекции проводят в любом порядке.

[0399] Хелперные CD4<sup>+</sup> Т-клетки сортируют на наивные клетки, центральные клетки памяти и эффекторные клетки путем идентификации клеточных популяций, имеющих клеточные поверхностные антигены. CD4<sup>+</sup> лимфоциты можно получать стандартными методами. В некоторых вариантах осуществления наивные CD4<sup>+</sup> Т лимфоциты представляют собой CD45RO<sup>-</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления центральные CD4<sup>+</sup> клетки памяти представляют собой CD62L<sup>+</sup> и CD45RO<sup>+</sup> клетки. В некоторых вариантах осуществления эффекторные CD4<sup>+</sup> клетки представляют собой CD62L<sup>-</sup> и CD45RO<sup>-</sup> клетки.

[0400] В одном примере для обогащения по CD4<sup>+</sup> клеткам методом отрицательной селекции коктейль моноклональных антител, как правило, включает антитела к CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. В некоторых вариантах осуществления антитело или связывающий партнер связаны с твердой подложкой или матрицей, такой как магнитная гранула или парамагнитная гранула, что позволяет разделять клетки для положительной и/или отрицательной селекции. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки и клеточные популяции разделяют или выделяют с использованием иммуно-магнитных (или аффино-магнитных) методов разделения (обзор приведен в *Methods in Molecular Medicine*, vol. 58: *Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In vitro and In vivo*, p 17-25 под редакцией: S. A. Brooks and U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

[0401] В некоторых аспектах образец или композицию клеток, которые предстоит разделять, инкубируют с мелким, намагничиваемым или магнитно-чувствительным материалом, таким как магнитно-чувствительные частицы или микрочастицы, например, парамагнитные гранулы (например, такие как гранулы Dynabeads<sup>®</sup> или MACS<sup>®</sup>). Магнитно-чувствительный материал, например, частица, как правило, непосредственно или опосредованно присоединен к связывающему партнеру, например, антителу, которое специфически связывает молекулу, например, поверхностный маркер, находящийся на клетке, клетках, или популяции клеток, которые желателно отделять, например, которые желателно подвергать отрицательной или положительной селекции.

[0402] В некоторых вариантах осуществления магнитная частица или гранула содержит магнитно-чувствительный материал, связанный со специфическим связывающим средством, таким как антитело или другой связывающий партнер. Существует множество хорошо известных магнитно-чувствительных материалов, используемых в магнитных методах разделения. Подходящие магнитные частицы включают те, которые описаны в выданном Molday патенте США № 4452773 и в европейской патентной заявке EP 452342 B, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Другими примерами являются коллоидные частицы, такие как те, которые описаны в выданном Owen патенте США № 4795698 и в выданном Liberti *et al.* патенте США № 5200084.

[0403] Инкубацию, как правило, проводят в условиях, в которых антитела или

связывающие партнеры, или молекулы, такие как вторичные антитела или другие реагенты, специфически связывающие такие антитела или связывающих партнеров, которые связаны с магнитной частицей или гранулой, специфически связывают клеточные поверхностные молекулы, если они находятся на клетках в образце.

[0404] В некоторых аспектах образец помещают в магнитное поле, и те клетки, с которыми связаны магнитно-чувствительные или намагничиваемые частицы, будут притягиваться к магниту и отделяться от немеченых клеток. Для положительной селекции сохраняют клетки, которые притягиваются к магниту; для отрицательной селекции сохраняют клетки, которые не притягиваются (немеченые клетки). В некоторых аспектах используют сочетание положительной и отрицательной селекции во время одного и того же этапа селекции, при этом положительные и отрицательные фракции сохраняют и дополнительно обрабатывают, или подвергают дополнительным этапам разделения.

[0405] В конкретных вариантах осуществления магнитно-чувствительные частицы покрыты первичными антителами или другими связывающими партнерами, вторичными антителами, лектинами, ферментами или стрептавидином. В конкретных вариантах осуществления магнитные частицы присоединяют к клеткам за счет покрытия первичными антителами, специфичными для одного или более маркеров. В конкретных вариантах осуществления клетки, а не гранулы, метят первичным антителом или связывающим партнером, а затем добавляют магнитные частицы, покрытые специфичным для клеточного типа вторичным антителом или другим связывающим партнером (например, стрептавидином). В конкретных вариантах осуществления покрытые стрептавидином магнитные частицы используют в сочетании с биотинилированными первичными или вторичными антителами.

[0406] В некоторых вариантах осуществления магнитно-чувствительные частицы оставляют присоединенными к клеткам, которые впоследствии будут инкубировать, культивировать и/или генетически модифицировать; в некоторых аспектах частицы оставляют присоединенными к клеткам, предназначенным для введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления намагничиваемые или магнитно-чувствительные частицы удаляют с клеток. Методы удаления намагничиваемых частиц с клеток могут включать, например, использование конкурирующих немеченых антител, намагничиваемых частиц или антител, конъюгированных с расщепляемыми линкерами, и так далее. В некоторых вариантах осуществления намагничиваемые частицы являются биоразлагаемыми.

[0407] В некоторых вариантах осуществления селекцию на основе аффинности проводят методом магнитной сортировки активированных клеток (MACS<sup>®</sup>) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Системы магнитной сортировки активированных клеток (MACS<sup>®</sup>) способны обеспечивать получение после селекции высокочистых клеток с присоединенными к ним намагничиваемыми частицами. В конкретных вариантах осуществления MACS<sup>®</sup> действует в режиме, в котором нецелевые и целевые молекулы последовательно элюируются после наложения внешнего магнитного поля. То есть, клетки,

присоединенные к намагничиваемым частицам, удерживаются на месте, в то время как не присоединенные клетки элюируются. Затем, после завершения этого первого этапа элюции, клетки, которые были удержаны в магнитном поле и не были элюированы, определенным образом высвобождаются так, что они могут быть элюированы и извлечены. В конкретных аспектах не целевые клетки метят и удаляют из гетерогенной популяции клеток.

[0408] В конкретных вариантах осуществления выделение или разделение проводят с использованием системы, устройства или прибора, которые выполняют один или более из этапов выделения, подготовки, разделения, обработки, инкубации, культивирования и/или формулирования клеток. В некоторых аспектах используют систему для выполнения каждого из этих этапов в закрытом или стерильном окружении, например, для сведения к минимуму ошибок, манипуляций пользователя и/или загрязнения. В одном примере система представляет собой систему, описанную в публикации международной патентной заявки с номером WO2009/072003 или в US 20110003380 A1.

[0409] В некоторых вариантах осуществления система или прибор выполняет один или более, например, все, из этапов выделения, обработки, генетической модификации и формулирования в интегрированной или автономной системе, и/или в автоматическом или программируемом режиме. В некоторых аспектах система или прибор включает компьютер и/или компьютерную программу, осуществляющие связь с системой или прибором, что позволяет пользователю программировать, контролировать, оценивать результаты и/или корректировать различные аспекты этапов обработки, выделения, генетической модификации и формулирования.

[0410] В некоторых аспектах разделение и/или другие этапы проводят с использованием системы CliniMACS<sup>®</sup> (Miltenyi Biotec), например, для автоматизированного разделения клеток на клинически значимых уровнях в закрытой и стерильной системе. Компоненты могут включать встроенный микрокомпьютер, магнитный сепаратор, перистальтический насос и различные пережимные клапаны. В некоторых аспектах интегрированный компьютер контролирует все компоненты прибора и управляет системой для проведения повторяющихся процедур в стандартизированной последовательности. В некоторых аспектах ячейка магнитного разделения включает подвижный постоянный магнит и держатель для селекционной колонки. Перистальтический насос контролирует скорость потока через набор трубок и, совместно с пережимными клапанами, обеспечивает контролируемый поток буфера через систему и постоянную суспензию клеток.

[0411] В некоторых аспектах в системе CliniMACS<sup>®</sup> используют связанные с антителами намагничиваемые частицы, которые подаются в стерильном апиrogenном растворе. В некоторых вариантах осуществления после мечения клеток магнитными частицами клетки промывают для удаления избытка частиц. Затем мешок с клеточным препаратом соединяют с набором трубок, который, в свою очередь, соединен с мешком, содержащим буфер, и мешком для сбора клеток. Набор трубок состоит из предварительно соединенных стерильных трубок, включая пред-колонку и разделительную колонку,

которые предназначены только для одноразового применения. После начала программы разделения система автоматически наносит клеточный образец на разделительную колонку. Меченые клетки удерживаются на колонке, в то время как немеченые клетки удаляются в серии этапов промывания. В некоторых вариантах осуществления клеточные популяции, используемые в способах, описанных в настоящем документе, являются немечеными и не удерживаются на колонке. В некоторых вариантах осуществления клеточные популяции, используемые в способах, описанных в настоящем документе, являются мечеными и удерживаются на колонке. В некоторых вариантах осуществления клеточные популяции, используемые в способах, описанных в настоящем документе, элюируются с колонки после снятия магнитного поля, и собираются в мешке для сбора клеток.

[0412] В конкретных вариантах осуществления разделение и/или другие этапы проводят с использованием системы CliniMACS Prodigy<sup>®</sup> (Miltenyi Biotec). В некоторых аспектах система CliniMACS Prodigy<sup>®</sup> оснащена блоком обработки клеток, который позволяет автоматизировать промывку и фракционирование клеток путем центрифугирования. Система CliniMACS Prodigy<sup>®</sup> также может включать встроенную камеру и программное обеспечение для распознавания изображений, которые определяют оптимальную конечную точку фракционирования клеток, распознавая макроскопические слои исходного клеточного продукта. Например, периферическая кровь может быть автоматически разделена на эритроциты, белые клетки крови и слои плазмы. Система CliniMACS Prodigy<sup>®</sup> также может включать встроенную камеру для культивирования клеток, которая выполняет протоколы культивирования клеток, такие как, например, клеточная дифференциация и размножение, антигенная нагрузка и долговременное культивирование клеток. Входные порты могут обеспечивать стерильное удаление и пополнение среды, и мониторинг клеток можно проводить с использованием встроенного микроскопа. См. например, Klebanoff *et al.* (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura *et al.* (2012) *Blood.* 1:72-82 и Wang *et al.* (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701.

[0413] В некоторых вариантах осуществления клеточную популяцию, описанную в настоящем документе, собирают и обогащают (или истощают) методом проточной цитометрии, в котором клетки, окрашенные на несколько клеточных поверхностных маркеров, переносятся жидким потоком. В некоторых вариантах осуществления клеточную популяцию, описанную в настоящем документе, собирают и обогащают (или истощают) методом препаративной (FACS)-сортировки. В конкретных вариантах осуществления клеточную популяцию, описанную в настоящем документе, собирают и обогащают (или истощают) путем использования чипов микроэлектромеханических систем (MEMS) в сочетании с системой детекции на основе FACS (смотри, например, WO 2010/033140, Cho *et al.* (2010) *Lab Chip* 10:1567-1573; и Godin *et al.* (2008) *J Biophoton.* 1(5):355-376. В обоих случаях клетки можно метить несколькими маркерами, что позволяет выделять четко определенные подмножества Т-клеток с высокой чистотой.

[0414] В некоторых вариантах осуществления антитела или связывающие партнеры

метят одним или более детектируемыми маркерами для облегчения разделения при положительной и/или отрицательной селекции. Например, разделение может быть основано на связывании с флуоресцентно мечеными антителами. В некоторых примерах разделение клеток на основе связывания антител или других связывающих партнеров, специфичных для одного или более клеточных поверхностных маркеров, проводят в жидком потоке, например, методом активированной флуоресценцией сортировки клеток (FACS), в том числе, в препаративном масштабе (FACS) и/или с использованием чипов микроэлектромеханических систем (MEMS), например, в сочетании с проточно-цитометрической системой детекции. Такие способы позволяют одновременно проводить положительную и отрицательную селекцию на основе нескольких маркеров.

[0415] В некоторых вариантах осуществления способы получения включают этапы замораживания, например, криоконсервирования, клеток, либо до, либо после, выделения, инкубации и/или генетической модификации. В некоторых вариантах осуществления замораживание, с последующим этапом размораживания, позволяет удалять гранулоциты и, в некоторой степени, моноциты в клеточной популяции. В некоторых вариантах осуществления клетки суспендируют в растворе для замораживания, например, после этапа промывания для удаления плазмы и тромбоцитов. В некоторых аспектах можно использовать любой из различных известных растворов для замораживания и параметров. Один пример включает использование PBS, содержащего 20% ДМСО и 8% человеческого сывороточного альбумина (ЧСА), или другой подходящей среды для замораживания клеток. Затем суспензию разбавляют 1:1 средой так, что конечные концентрации ДМСО и ЧСА составляют 10% и 4%, соответственно. Затем клетки замораживают до  $-80^{\circ}\text{C}$  со скоростью  $1^{\circ}$  в минуту и хранят в резервуаре-хранилище в паровой фазе жидкого азота.

[0416] В некоторых вариантах осуществления предложенные способы включают этапы культивации, инкубации, культивирования и/или генетической модификации. Например, в некоторых вариантах осуществления предложены способы инкубации и/или генетической модификации истощенных клеточных популяций и иницирующих культуру композиций.

[0417] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления клеточные популяции инкубируют в иницирующей культуре композиции. Инкубацию и/или генетическую модификацию можно проводить в емкости для культивирования, такой как блок, камера, лунка, колонка, трубка, набор трубок, клапан, флакон, чашка для культивирования, мешок или другой контейнер для культивирования, или культивации, клеток.

[0418] В некоторых вариантах осуществления клетки инкубируют и/или культивируют до проведения, или одновременно с проведением, генетической модификации. Этапы инкубации могут включать культивирование, культивацию, стимуляцию, активацию и/или размножение. В некоторых вариантах осуществления композиции или клетки инкубируют в присутствии стимулирующих условий или стимулирующего средства. Такие условия включают условия, предназначенные для индукции пролиферации, размножения, активации и/или выживания клеток в популяции,

для имитации воздействия антигена и/или для примирования клеток для генетической модификации, например, для введения рекомбинантного антигенного рецептора.

[0419] Условия могут включать одно или более из конкретной среды, температуры, содержания кислорода, содержания диоксида углерода, периода времени, средств, например, питательных веществ, аминокислот, антибиотиков, ионов и/или стимулирующих факторов, таких как цитокины, хемокины, антигены, связывающие партнеры, слитые белки, рекомбинантные растворимые рецепторы, а также любые другие средства, предназначенные для активации клеток.

[0420] В некоторых вариантах осуществления стимулирующие условия или средства включают одно или более средств, например, лиганд, который способен активировать внутриклеточный сигнальный домен комплекса TCR. В некоторых аспектах средство запускает или инициирует внутриклеточный сигнальный каскад TCR/CD3 в Т-клетке. Такие средства могут включать антитела, например, те, которые специфичны для TCR, например, анти-CD3 антитела. В некоторых вариантах осуществления стимулирующие условия включают одно или более средств, например, лиганд, который способен стимулировать костимулирующий рецептор, например, анти-CD28 антитело. В некоторых вариантах осуществления такие средства и/или лиганды могут быть связаны с твердой подложкой, такой как гранула, и/или могут представлять собой один или более цитокинов. Необязательно, способ размножения может дополнительно включать этап добавления анти-CD3 и/или анти-CD28 антитела в среду для культивирования (например, в концентрации по меньшей мере примерно 0,5 нг/мл). В некоторых вариантах осуществления стимулирующие средства включают IL-2, IL-15 и/или IL-7. В некоторых аспектах концентрация IL-2 составляет по меньшей мере примерно 10 Единиц/мл.

[0421] В некоторых аспектах инкубацию проводят методами, такими как те, которые описаны в патенте США № 6040177, выданном Riddell *et al.*, публикациях Klebanoff *et al.* (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura *et al.* (2012) *Blood.* 1:72-82 и/или Wang *et al.* (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701.

[0422] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки размножают путем добавления к инициирующей культуру композиции питающих клеток, таких как неделящиеся мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), (например, таким образом, что полученная популяция клеток содержит по меньшей мере примерно 5, 10, 20 или 40, или более, питающих клеток МКПК на каждый Т-лимфоцит в начальной популяции, которая будет размножена); и инкубации культуры (например, в течение периода времени, достаточного для увеличения количества Т-клеток). В некоторых аспектах неделящиеся питающие клетки могут представлять собой гамма-облученные питающие клетки МКПК. В некоторых вариантах осуществления МКПК облучают гамма-лучами в диапазоне доз примерно 3000-3600 рад для предотвращения деления клеток. В некоторых аспектах питающие клетки добавляют в среду для культивирования до добавления популяций Т-клеток.

[0423] В некоторых вариантах осуществления стимулирующие условия включают

температуру, подходящую для роста человеческих Т-лимфоцитов, например, по меньшей мере примерно 25 градусов Цельсия, как правило, по меньшей мере примерно 30 градусов, и как правило, точно, или примерно, 37 градусов Цельсия. Необязательно, инкубация может дополнительно включать добавление неделящихся EBV-трансформированных лимфобластоидных клеток (LCL) в качестве питающих клеток. LCL могут быть облучены гамма-излучением в диапазоне примерно 6000-10000 рад. В некоторых аспектах питающие клетки LCL предоставляют в любом подходящем количестве так, что соотношение питающих клеток LCL и исходных Т-лимфоцитов составляет по меньшей мере примерно 10:1.

[0424] В вариантах осуществления антиген-специфические Т-клетки, такие как антиген-специфические CD4+ и/или CD8+ Т-клетки, получают путем стимуляции антигеном наивных или антиген-специфических Т-лимфоцитов. Например, антиген-специфические Т-клеточные линии или клоны могут быть получены к антигенам цитомегаловируса путем получения Т-клеток от инфицированных субъектов и стимуляции клеток *in vitro* тем же антигеном.

### **С. Генетически модифицированные клетки, векторы и композиции для множественного таргетирования**

[0425] Также предложены клетки, такие как генетически модифицированные клетки, которые могут связывать, и/или быть нацелены на, несколько антигенов. В некоторых вариантах осуществления повышенной избирательности и специфичности добиваются за счет стратегий таргетирования нескольких антигенов. Такие стратегии, как правило, включают использование нескольких антигенсвязывающих доменов, которые, как правило, присутствуют в разных генетически модифицированных антигенных рецепторах и специфически связывают разные антигены. В некоторых вариантах осуществления клетки являются генетически модифицированными со способностью к связыванию более, чем одного антигена. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки генетически модифицируют для экспрессии мультиспецифических связывающих молекул. В некоторых вариантах осуществления клетки экспрессируют несколько связывающих молекул, например, рекомбинантных рецепторов, каждый из которых может быть нацелен на один антиген или на несколько антигенов, например, один рецептор, нацеленный на ВСМА, например, любой из описанных в настоящем документе, и другой рецептор, нацеленный на другой антиген, например, опухолевый антиген. В некоторых аспектах в клетку вводят множество генетически модифицированных антигенных рецепторов, которые специфически связывают разные антигены, каждый из которых экспрессируется на клетках или тканях, затронутых заболеванием или состоянием, которое предстоит лечить. В некоторых аспектах такие признаки могут устранять или уменьшать вероятность нецелевых эффектов или повышать эффективность. Например, если один антиген, экспрессируемый при заболевании или состоянии, также экспрессируется на не пораженных заболеванием или нормальных клетках, такие подходы с множественным таргетированием могут обеспечивать избирательность для клеток нужного типа за счет необходимости связывания

нескольких антигенных рецепторов для активации клетки или индукции конкретной эффекторной функции. В некоторых вариантах осуществления множество клеток можно генетически модифицировать для экспрессии одного или более разных связывающих молекул, например, рекомбинантных рецепторов, каждый из которых будет нацелен на один антиген или несколько антигенов.

[0426] Также предложены мультиспецифические клетки, содержащие любые из связывающих молекул, описанных в настоящем документе, такие как клетки, содержащие клеточный поверхностный белок, содержащий анти-BCMA антитело, и дополнительный клеточный поверхностный белок, например, дополнительный химерный рецептор, который связывает другой антиген или другой эпитоп на BCMA. В некоторых вариантах осуществления предложены композиции клеток, которые экспрессируют рекомбинантные рецепторы, при этом одна или более из связывающих молекул, мультиспецифических связывающих молекул и/или рекомбинантных рецепторов связывают, и/или нацелены на, BCMA. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифические связывающие молекулы и/или рекомбинантные рецепторы нацелены на один или более разных эпитопов на BCMA.

[0427] В некоторых вариантах осуществления предложена композиция клеток, при этом клетки каждого типа экспрессируют одну или более связывающих молекул, например, рекомбинантных рецепторов. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит (например, была трансформирована) один или более векторов, содержащих одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих одну или более аминокислотных последовательностей, составляющих одно или более антител, и/или их фрагментов, например, их антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления предложены одна или более таких клеток. В некоторых вариантах осуществления предложена композиция, содержащая одну или более таких клеток. В некоторых вариантах осуществления одна или более клеток могут экспрессировать разные антитела или одно и то же антитело. В некоторых вариантах осуществления каждая из клеток экспрессирует одно или более антител, например, более одного антитела. В некоторых вариантах осуществления каждая из клеток экспрессирует мультиспецифическую связывающую молекулу, например, мультиспецифический рецептор, например, CAR.

[0428] В некоторых вариантах осуществления в стратегиях множественного таргетирования используют клетки, нацеленные на BCMA и второй или дополнительный антиген, связанный с конкретным заболеванием или состоянием. В некоторых вариантах осуществления на вторичный или дополнительный антиген нацелена мультиспецифическая связывающая молекула и/или несколько связывающих молекул и/или множество клеток, например, одна или более клеток, каждая из которых генетически модифицирована для экспрессии одного или более рекомбинантных рецепторов. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, нацеленный на второй или дополнительный антиген, экспрессируется на той же клетке, что и BCMA-связывающая молекула, или на другой клетке.

[0429] В некоторых вариантах осуществления в число вторичных или дополнительных антигенов для стратегии множественного таргетирования входят те, среди которых по меньшей мере один антиген представляет собой универсальный опухолевый антиген или представитель их семейства. В некоторых вариантах осуществления вторичный или дополнительный антиген представляет собой антиген, экспрессируемый на опухоли. В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающие молекулы, предложенные в настоящем документе, нацелены на антиген на опухоли того же типа, что и вторичный или дополнительный антиген. В некоторых вариантах осуществления вторичный или дополнительный антиген также может представлять собой универсальный опухолевый антиген или может представлять собой опухолевый антиген, специфический для типа опухоли. В некоторых вариантах осуществления клетка дополнительно содержит дополнительный генетически модифицированный антигенный рецептор, который узнает второй или дополнительный антиген, экспрессированный на клетках, связанных с заболеванием или состоянием, которое предстоит лечить, и индуцирует стимулирующий или активирующий сигнал.

[0430] Иллюстративные антигены включают CD4, CD5, CD8, CD14, CD15, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD33, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD46, CD52, CD54, CD74, CD80, CD126, CD138, B7, MUC-1, Ia, HM1,24, HLA-DR, тенаascin, фактор ангиогенеза, VEGF, PlGF, ED-B фибронектин, онкоген, продукт онкогена, CD66a-d, характерные для некроза антигены, Ii, IL-2, T101, TAC, IL-6, ROR1, TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), антиген созревания В-клеток (BCMA), tEGFR, Her2, L1-CAM, мезотелин, CEA, поверхностный антиген вируса гепатита В, антифолатный рецептор, CD24, CD30, CD44, EGFR, EGP-2, EGP-4, ERHa2, ErbB2, ErbB3, ErbB4, димеры erbB, EGFR vIII, FBP, FCRL5, FCRH5, эмбриональный ацетилхолиновый рецептор, GD2, GD3, представитель D класса С группы 5 связанных с G-белками рецепторов (GPCR5D), HMW-MAA, IL-22R-альфа, IL-13R-альфа2, kdr, легкую цепь каппа, Lewis Y, L1-молекулу клеточной адгезии (L1-CAM), меланома-ассоциированный антиген (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), сурвивин, EGP2, EGP40, TAG72, B7-H6, IL-13 рецептор  $\alpha 2$  (IL-13Ra2), CA9, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE A1, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, фолатный рецептор  $\alpha$ , CD44v6, CD44v7/8, интегрин avb6, 8H9, NCAM, рецепторы VEGF, 5T4, эмбриональный AchR, лиганды NKG2D, двойной антиген, антиген, связанный с универсальным маркером, раково-тестикулярный антиген, MUC1, MUC16, NY-ESO-1, MART-1, gp100, онкоэмбриональный антиген, VEGF-R2, карциноэмбриональный антиген (CEA), простатический специфический антиген, PSMA, Her2/неу, рецептор эстрогена, рецептор прогестерона, эфрин B2, CD123, c-Met, GD-2, O-ацетилированный GD2 (OGD2), CE7, антиген опухоли Вильмса 1 (WT-1), циклин, циклин A2, CCL-1, hTERT, MDM2, CYP1B, WT1, ливин, AFP, p53, циклин (D1), CS-1, BCMA, BAFF-R, TACI, CD56, TIM-3, CD123, L1-молекулу клеточной адгезии, MAGE-A1, MAGE A3, циклин, такой как циклин A1 (CCNA1), и/или специфический для патогена антиген, биотинилированные молекулы, молекулы, экспрессируемые HIV, HCV, HBV и/или

другими патогенами, и/или, в некоторых аспектах, их неоэпитопы или неоантигены. В некоторых вариантах осуществления антиген связан с, или представляет собой универсальный маркер.

[0431] В некоторых вариантах осуществления несколько антигенов, например, первый антиген, например, ВСМА, и вторичные или дополнительные антигены, экспрессируются на клетке, ткани, связанной с заболеванием или состоянием, которое предстоит лечить, например, на раковой клетке. В некоторых аспектах клетка, ткань, связанное с ней заболевание или состояние, представляет собой множественную миелому или клетку множественной миеломы. Один или более из множества антигенов, как правило, также экспрессируются на клетке, которая не должна быть мишенью при клеточной терапии, например, на нормальной или не затронутой заболеванием клетке или ткани, и/или на самих генетически модифицированных клетках. В таких вариантах осуществления за счет необходимости связывания нескольких рецепторов для возникновения ответа клетки, достигается специфичность и/или эффективность.

[0432] В некоторых аспектах антиген, например, вторичный или дополнительный антиген, такой как характерный для заболевания антиген и/или связанный с заболеванием антиген, экспрессируется на клетках множественной миеломы, например, представитель D класса С группы 5 связанных с G-белками рецепторов (GPCR5D), CD38 (гидролаза циклической АДФ-рибозы), CD138 (синдекан-1, синдекан, SYN-1), CS-1 (CS1, CD2 подгруппы 1, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24), BAFF-R, TACI и/или FcRH5. Другие иллюстративные антигены множественной миеломы включают CD56, TIM-3, CD33, CD123, CD44, CD20, CD40, CD74, CD200, EGFR,  $\beta$ 2-микроглобулин, HM1,24, IGF-1R, IL-6R, TRAIL-R1 и рецептор активина типа IIA (ActRIIA). Смотри Benson and Byrd, *J. Clin. Oncol.* (2012) 30(16): 2013-15; Tao and Anderson, *Bone Marrow Research* (2011):924058; Chu *et al.*, *Leukemia* (2013) 28(4):917-27; Garfall *et al.*, *Discov Med.* (2014) 17(91):37-46. В некоторых вариантах осуществления антигены включают антигены, присутствующие на лимфоидных опухолях, миеломе, СПИД-ассоциированной лимфоме и/или при пост-трансплантационных лимфопролиферативных заболеваниях, например, CD38. Антитела, или антигенсвязывающие фрагменты, направленные против таких антигенов, известны и включают, например, те, которые описаны в патентах США №№ 8153765; 8603477, 8008450; патентных публикациях США US20120189622 или US20100260748; и/или международных PCT публикациях №№ WO2006099875, WO2009080829 или WO2012092612, или WO2014210064. В некоторых вариантах осуществления такие антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты (например, scFv), содержатся в мультиспецифических антителах, мультиспецифических химерных рецепторах, таких как мультиспецифические CAR, и/или мультиспецифических клетках.

[0433] В некоторых вариантах осуществления к клеткам и способам применяют стратегию множественного таргетирования, например, экспрессию двух или более генетически модифицированных рецепторов на клетке, все из которых узнают разные антигены, и, как правило, все имеют разные компоненты внутриклеточной сигнализации.

Такие стратегии множественного таргетирования описаны, например, в публикации международной патентной заявки № WO 2014055668 A1 (в которой описано сочетание стимулирующего или активирующего и костимулирующего CAR, например, нацеленных на два разных антигена, присутствующие отдельно на нецелевых, например, нормальных, клетках, но присутствующие совместно только на клетках, связанных с заболеванием или состоянием, которое предстоит лечить) и в публикации Fedorov *et al.*, *Sci. Transl. Medicine*, 5(215) (December, 2013) (в которой описаны клетки, экспрессирующие стимулирующий или активирующий и ингибирующий CAR, например, такие как те, в которых стимулирующий или активирующий CAR связывает один антиген, экспрессируемый как на нормальных, или не связанных с заболеванием, клетках, так и на клетках, связанных с заболеванием или состоянием, которое предстоит лечить, и ингибирующий CAR связывает другой антиген, экспрессируемый только на нормальных клетках или клетках, которые не требуется лечить).

[0434] В некоторых вариантах осуществления предложено множество клеток, каждая из которых генетически модифицирована для экспрессии одного или более рекомбинантных рецепторов. Например, в некоторых вариантах осуществления одна клетка генетически модифицирована для экспрессии связывающей молекулы, которая связывает, и/или нацелена на, ВСМА, и другая клетка генетически модифицирована для экспрессии связывающей молекулы, которая связывает, и/или нацелена на, дополнительный или второй антиген. В некоторых вариантах осуществления каждая из клеток может экспрессировать мультиспецифическую связывающую молекулу, например, мультиспецифический рекомбинантный рецептор, при этом один или более из антигенов-мишеней представляют собой ВСМА. В некоторых из таких вариантов осуществления множество клеток можно вводить совместно или раздельно. В некоторых вариантах осуществления множество клеток вводят одновременно или параллельно с клетками, например, вводят в один и тот же день, и/или последовательно, или поочередно, в любом порядке, с другой генетически модифицированной клеткой во множестве. Например, в некоторых вариантах осуществления генетически модифицированную клетку, экспрессирующую ВСМА-связывающую молекулу, например, CAR, вводят одновременно, или последовательно, в любом порядке, с другой генетически модифицированной клеткой, экспрессирующей связывающую молекулу, которая связывает иной антиген-мишень или иной эпитоп на ВСМА. В некоторых вариантах осуществления множество клеток могут находиться в одной и той же композиции. Иллюстративные композиции клеток включают композиции, описанные в разделе II, ниже.

#### IV. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

[0435] Также предложены композиции, содержащие ВСМА-связывающие молекулы, иммуноконъюгаты, рекомбинантные рецепторы и генетически модифицированные клетки, включая фармацевтические композиции и препараты. В число таких композиций входят те, которые содержат генетически модифицированные клетки, например, множество генетически модифицированных клеток, экспрессирующие

предложенные анти-BCMA рекомбинантные рецепторы (например, CAR).

[0436] Предложены фармацевтические препараты, содержащие BCMA-связывающие рекомбинантные химерные антигенные рецепторы или генетически модифицированные клетки, экспрессирующие указанные рецепторы, множество генетически модифицированных клеток, экспрессирующих указанные рецепторы, и/или дополнительные средства для комбинированного лечения или терапии. Фармацевтические композиции и препараты, как правило, содержат один или более необязательных фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере одно дополнительное лекарственное средство.

[0437] Термин «фармацевтический препарат» означает препарат, находящийся в такой форме, которая обеспечивает эффективную биологическую активность активного ингредиента, содержащегося в препарате, и которая не содержит какие-либо дополнительные компоненты, являющиеся неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет введен препарат.

[0438] «Фармацевтически приемлемый носитель» означает ингредиент в фармацевтическом препарате, отличный от активного ингредиента, который является нетоксичным для субъекта. Фармацевтически приемлемый носитель включает, но без ограничения, буфер, эксципиент, стабилизатор или консервант.

[0439] В некоторых аспектах выбор носителя частично определяется конкретной клеткой, связывающей молекулой и/или антителом, и/или способом введения. Соответственно, существуют различные подходящие препараты. Например, фармацевтическая композиция может содержать консерванты. Подходящие консерванты могут включать, например, метилпарабен, пропилпарабен, бензоат натрия и бензалкония хлорид. В некоторых аспектах используют смесь двух или более консервантов. Консерванты, или их смеси, как правило, присутствуют в количестве от примерно 0,0001% до примерно 2% по массе от общей массы композиции. Носители описаны, например, в сборнике Remington's Pharmaceutical Sciences 16-е издание, Osol, A. Ed. (1980). Фармацевтически приемлемые носители, как правило, являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозах и концентрациях, и включают, но без ограничения, буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецилдиметилбензил аммония хлорид; гексаметэтония хлорид; бензалкония хлорид; бензэтония хлорид; фенол, бутил или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее примерно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или

сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок) и/или неионные сурфактанты, такие как полиэтиленгликоль (PEG).

[0440] В некоторых аспектах в композиции включают буферные средства. Подходящие буферные средства включают, например, лимонную кислоту, цитрат натрия, фосфорную кислоту, фосфат калия, а также разные другие кислоты и соли. В некоторых аспектах используют смесь двух или более буферных средств. Буферные средства, или их смеси, как правило, присутствуют в количестве от примерно 0,001% до примерно 4% по массе от общей массы композиции. Способы получения вводимых фармацевтических композиций известны. Иллюстративные способы описаны более подробно, например, в сборнике Remington: Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21-е издание (1 мая 2005 г.).

[0441] Препараты антител, описанных в настоящем документе, могут включать лиофилизированные препараты и водные растворы.

[0442] Препарат или композиция также может содержать более одного активного ингредиента, полезного для лечения конкретного нарушения, заболевания или состояния с помощью связывающих молекул или клеток, предпочтительно такие, активности которых дополняют активности связывающей молекулы или клетки, при этом соответствующие активности не оказывают взаимного негативного влияния. Такие активные ингредиенты предпочтительно присутствуют в сочетании в количествах, которые эффективны для намеченной цели. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит другие фармацевтически активные средства или лекарственные средства, такие как химиотерапевтические средства, например, аспарагиназа, бусульфан, карбоплатин, цисплатин, даунорубин, доксорубин, фторурацил, гемцитабин, гидроксимочевина, метотрексат, паклитаксел, ритуксимаб, винбластин, винкристин и так далее. В некоторых вариантах осуществления при введении клеток или антител используют форму соли, например, фармацевтически приемлемой соли. Подходящие фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли включают те, которые получены из минеральных кислот, таких как хлористоводородная, бромистоводородная, фосфорная, метафосфорная, азотная и серная кислоты, а также органических кислот, таких как виннокаменная, уксусная, лимонная, яблочная, молочная, фумаровая, бензойная, гликолевая, глюконовая, янтарная и арилсульфоновая кислоты, например, *p*-толуолсульфоновая кислота.

[0443] Активные ингредиенты могут быть заключены в микрокапсулы, в коллоидные системы доставки лекарственных средств (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы) или в макроэмульсии. В конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция сформулирована в виде комплекса включения, такого как циклодекстриновый комплекс включения, или в виде липосом. Липосомы могут служить для нацеливания клеток-хозяев (например, Т-клеток или НК-клеток) на конкретную ткань. Известно множество способов получения липосом, например, таких как те, которые описаны, например, в публикации

Szoka *et al.*, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 9: 467 (1980) и патентах США 4235871, 4501728, 4837028 и 5019369.

[0444] В некоторых аспектах для фармацевтической композиции могут быть использованы системы с продленным высвобождением, отсроченным высвобождением и замедленным высвобождением, так что доставка композиции происходит заранее и в течение достаточного времени для сенсбилизации участка, подлежащего лечению. Доступны и известны многие виды систем с модифицированным высвобождением. Такие системы позволяют избегать повторных введений композиции, что является более удобным для субъекта и врача.

[0445] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит связывающие молекулы и/или клетки в количествах, эффективных для лечения, или предотвращения, заболевания или состояния, например, в терапевтически эффективных или профилактически эффективных количествах. В некоторых вариантах осуществления терапевтическую или профилактическую эффективность контролируют путем периодической оценки получающих лечение субъектов. В случае повторных введений в течение нескольких дней, или дольше, в зависимости от состояния, лечение повторяют до наступления желаемого подавления симптомов заболевания. Однако и другие схемы дозирования могут быть полезны и могут быть определены. Нужные дозы можно доставлять однократным болюсным введением композиции, несколькими болюсными введениями композиции или путем непрерывной инфузии композиции.

[0446] В конкретных вариантах осуществления, в контексте генетически модифицированных клеток, содержащих связывающие молекулы, например, CAR, субъекту вводят клетки в диапазоне количеств от примерно одного миллиона до примерно 100 миллиардов клеток, например, от 1 миллиона до примерно 50 миллиардов клеток (например, примерно 5 миллионов клеток, примерно 25 миллионов клеток, примерно 500 миллионов клеток, примерно 1 миллиард клеток, примерно 5 миллиардов клеток, примерно 20 миллиардов клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 40 миллиардов клеток, или в диапазоне, определяемом любыми двумя из перечисленных значений), например, от примерно 10 миллионов до примерно 100 миллиардов клеток (например, примерно 20 миллионов клеток, примерно 30 миллионов клеток, примерно 40 миллионов клеток, примерно 60 миллионов клеток, примерно 70 миллионов клеток, примерно 80 миллионов клеток, примерно 90 миллионов клеток, примерно 10 миллиардов клеток, примерно 25 миллиардов клеток, примерно 50 миллиардов клеток, примерно 75 миллиардов клеток, примерно 90 миллиардов клеток, или в диапазоне, определяемом любыми двумя из перечисленных значений), и в некоторых случаях от примерно 100 миллионов клеток до примерно 50 миллиардов клеток (например, примерно 120 миллионов клеток, примерно 250 миллионов клеток, примерно 350 миллионов клеток, примерно 450 миллионов клеток, примерно 650 миллионов клеток, примерно 800 миллионов клеток, примерно 900 миллионов клеток, примерно 3 миллиарда клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 45 миллиардов клеток) или любое промежуточное значение в данных диапазонах,

и/или соответствующее количество клеток в расчете на килограмм массы тела субъекта. В некоторых аспектах, в контексте генетически модифицированных клеток, экспрессирующих связывающие молекулы, например, CAR, композиция может содержать по меньшей мере количество клеток для введения дозы клеточного терапевтического средства, например, примерно или по меньшей мере количества клеток для введения, описанного в настоящем документе, например, в разделе V.A.

[0447] Фармацевтическую композицию можно вводить с использованием стандартных способов введения, препаратов и/или устройств. Предложены препараты и устройства, такие как шприцы и флаконы, для хранения и введения композиций. Введение клеток может быть аутологичным или гетерологичным. Например, иммунореактивные клетки или клетки-предшественники могут быть получены от одного субъекта и введены тому же самому субъекту или другому, совместимому, субъекту. Полученные из периферической крови иммунореактивные клетки или их потомство (например, полученное *in vivo*, *ex vivo* или *in vitro*) можно вводить локализованной инъекцией, в том числе введением через катетер, системной инъекцией, локализованной инъекцией, внутривенной инъекцией или парентеральным введением. При введении терапевтической композиции (например, фармацевтической композиции, содержащей генетически модифицированные иммунореактивные клетки) она, как правило, будет сформулирована в стандартной инъекционной лекарственной форме (такой как раствор, суспензия, эмульсия).

[0448] Препараты включают препараты для перорального, внутривенного, внутрибрюшинного, подкожного, легочного, чрескожного, внутримышечного, интраназального, трансбуккального, подъязычного или суппозиторного введения. В некоторых вариантах осуществления средство или клеточные популяции вводят парентерально. Используемый в настоящем документе термин «парентеральное» введение включает внутривенное, внутримышечное, подкожное, ректальное, вагинальное и внутрибрюшинное введение. В некоторых вариантах осуществления клеточные популяции вводят субъекту с использованием периферической системной доставки путем внутривенной, внутрибрюшинной или подкожной инъекции.

[0449] В некоторых вариантах осуществления предложены композиции в виде стерильных жидких препаратов, например, изотонических водных растворов, суспензий, эмульсий, дисперсий или вязких композиций, которые в некоторых аспектах могут быть забуферены до выбранного значения pH. Жидкие препараты, как правило, готовить легче, чем гели, другие вязкие композиции и твердые композиции. Кроме того, жидкие композиции несколько удобнее для введения, особенно путем инъекции. Вязкие композиции, с другой стороны, могут быть сформулированы в пределах подходящего диапазона вязкости для обеспечения более длительных периодов контакта с конкретными тканями. Жидкие или вязкие композиции могут содержать носители, которые могут представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащие, например, воду, солевой раствор, фосфатно-солевой буфер, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль), а также их соответствующие смеси.

[0450] Стерильные инъекционные растворы могут быть получены путем включения связывающих молекул в растворитель, например, в виде смеси с соответствующим носителем, разбавителем или эксципиентом, таким как стерильная вода, физиологический солевой раствор, глюкоза, декстроза или тому подобное. Композиции также могут быть лиофилизированными. Композиции могут содержать вспомогательные вещества, такие как увлажняющие, диспергирующие или эмульгирующие средства (например, метилцеллюлоза), поддерживающие рН буферные средства, гелеобразующие или повышающие вязкость добавки, консерванты, ароматизаторы, красители, и тому подобное, в зависимости от пути введения и желаемого препарата. В некоторых аспектах можно обращаться к стандартным руководствам для приготовления соответствующих препаратов.

[0451] Можно добавлять различные добавки, повышающие стабильность и стерильность композиций, включая противомикробные консерванты, антиоксиданты, хелатирующие агенты и буферы. Предотвращение действия микроорганизмов можно обеспечивать за счет различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, сорбиновой кислоты и тому подобного. Пролонгированной абсорбции инъекционной фармацевтической формы можно добиваться за счет использования средств, замедляющих абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

[0452] Можно готовить препараты с замедленным высвобождением. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, при этом матрицы имеют форму профилированных изделий, например, пленок или микрокапсул.

[0453] Препараты, используемые для *in vivo* введения, как правило, являются стерильными. Стерильности можно добиваться, например, путем фильтрования через мембраны для стерилизации фильтрованием.

[0454] Также предложены фармацевтические композиции для комбинированной терапии. Любые из дополнительных средств для комбинированной терапии, описанных в настоящем документе, например, средств, описанных в разделе III.B, можно готовить и вводить в виде одной или более фармацевтических композиций, совместно с ВСМА-связывающей молекулой (например, антителом), иммуноконъюгатом, рекомбинантным рецептором (например, химерным антигенным рецептором) и/или генетически модифицированными клетками, экспрессирующими указанные молекулы (например, рекомбинантный рецептор), описанными в настоящем документе. Комбинированную терапию можно осуществлять путем введения одной или более фармацевтических композиций, например, когда связывающие молекулы, рекомбинантные рецепторы и/или клетки находятся в той же фармацевтической композиции, что и дополнительное средство, или в отдельной фармацевтической композиции. Например, в некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой дополнительную генетически модифицированную клетку, например, клетку, генетически модифицированную для экспрессии другого рекомбинантного рецептора, и его вводят в той же композиции или в

отдельной композиции. В некоторых вариантах осуществления каждую из фармацевтических композиций формулируют в соответствующий препарат в зависимости от конкретной связывающей молекулы, рекомбинантного рецептора, клетки, например, генетически модифицированной клетки, и/или дополнительного средства, и используют конкретную схему дозирования и/или способ доставки.

#### V. СПОСОБЫ И ВАРИАНТЫ ПРИМЕНЕНИЯ

[0455] Также предложены способы использования и варианты применения ВСМА-связывающих молекул, иммуноконъюгатов, рекомбинантных рецепторов, генетически модифицированных клеток, а также их фармацевтических композиций и препаратов, например, для лечения заболеваний, состояний и нарушений, при которых ВСМА экспрессируется, и/или в качестве обнаруживающих, диагностических и прогностических способов. В число таких способов, например, способов лечения и вариантов применения, входят те, которые включают введение субъекту генетически модифицированных клеток, например, множества генетически модифицированных клеток, экспрессирующих предложенные анти-ВСМА рекомбинантные рецепторы (например, CAR). Также предложены способы комбинированной терапии и/или лечения.

#### A. Терапевтические и профилактические способы и варианты применения

[0456] Также предложены способы введения и варианты применения, например, терапевтического и профилактического применения, ВСМА-связывающих молекул, включая анти-ВСМА рекомбинантные рецепторы (например, CAR), генетически модифицированные клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы (например, CAR), множество генетически модифицированных клеток, экспрессирующих рецепторы, и/или содержащие их композиции. Такие способы и варианты применения включают терапевтические способы и варианты применения, например, включающие введение молекул (например, рекомбинантных рецепторов), клеток (например, генетически модифицированных клеток), или содержащих их композиций, субъекту, имеющему заболевание, состояние или нарушение, связанное с ВСМА, например, заболевание, состояние или нарушение, связанное с экспрессией ВСМА, и/или при котором клетки или ткани экспрессируют, например, специфически экспрессируют, ВСМА. В некоторых вариантах осуществления молекулу, клетку и/или композицию вводят в эффективном количестве для лечения заболевания или нарушения. В настоящем документе предложены варианты применения рекомбинантных рецепторов (например, CAR) и клеток (например, генетически модифицированных клеток) в таких способах, и лечении, а также в производстве лекарственного средства для осуществления таких терапевтических способов. В некоторых вариантах осуществления способы осуществляют путем введения связывающих молекул или клеток, или содержащих их композиций, субъекту, имеющему, имевшему или предположительно имеющему заболевание или состояние. В некоторых вариантах осуществления способы позволяют лечить заболевание или состояние, или нарушение у субъекта. В настоящем документе также предложено применение любых композиций, таких как фармацевтические композиции, предложенные в настоящем

документе, для лечения заболевания или нарушения, связанного с ВСМА, например, применение в схеме лечения.

[0457] Используемый в настоящем документе термин «лечение» (и его грамматические вариации, такие как «лечить» или «лечебный») означает полное или частичное облегчение или ослабление заболевания или состояния, или нарушения, или симптома, неблагоприятного эффекта или исхода, или связанного с ними фенотипа. Желаемые эффекты лечения включают, но без ограничения, предотвращение развития или рецидива заболевания, ослабление симптомов, уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, уменьшение скорости прогрессирования заболевания, ослабление или временное облегчение болезненного состояния, а также ремиссию или более благоприятный прогноз. Термины не подразумевают полное исцеление заболевания или полное устранение любого симптома, или эффект(ы) на все симптомы или исходы.

[0458] При использовании в настоящем документе «отсрочка развития заболевания» означает откладывание, создание препятствия, замедление, торможение, стабилизацию, подавление и/или отсрочку развития заболевания (такого как рак). Эта отсрочка может иметь различную протяженность во времени, в зависимости от истории заболевания и/или получающего лечение субъекта. Достаточная или значительная отсрочка может, по сути, включать предотвращение, поскольку у индивидуума не развивается заболевание. Например, поздняя стадия рака, такая как развитие метастазов, может быть отсрочена.

[0459] Используемый в настоящем документе термин «предотвращение» включает обеспечение профилактики в отношении развития или рецидива заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но заболевание у него еще не было диагностировано. В некоторых вариантах осуществления предложенные клетки и композиции используют для отсрочки развития заболевания или замедления прогрессирования заболевания.

[0460] Используемый в настоящем документе термин «подавление» функции или активности означает ослабление функции или активности относительно в остальном таких же условий, за исключением интересующего условия или параметра, или, альтернативно, относительно другого состояния. Например, антитело или композиция, или клетка, подавляющие рост опухоли, уменьшают скорость роста опухоли в сравнении со скоростью роста опухоли в отсутствие антитела или композиции, или клетки.

[0461] «Эффективное количество» средства, например, фармацевтического препарата, связывающей молекулы, антитела, клеток или композиции, в контексте введения означает количество, эффективное, в необходимых дозах/количествах и в течение необходимых периодов времени, для достижения желаемого результата, такого как терапевтический или профилактический результат.

[0462] «Терапевтически эффективное количество» средства, например, фармацевтического препарата, связывающей молекулы, антитела, клеток или композиции, означает количество, эффективное, в необходимых дозах и в течение необходимых

периодов времени, для достижения желаемого терапевтического результата, например, для лечения заболевания, состояния или нарушения, и/или фармакокинетического или фармакодинамического эффекта лечения. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса тела субъекта, а также вводимые популяции клеток. В некоторых вариантах осуществления предложенные способы включают введение молекул, антител, клеток и/или композиций в эффективных количествах, например, терапевтически эффективных количествах.

[0463] «Профилактически эффективное количество» означает количество, эффективное, в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени, для достижения желаемого профилактического результата. Как правило, но не обязательно, поскольку профилактическую дозу используют для субъектов до развития, или на ранней стадии развития, заболевания, профилактически эффективное количество будет меньшим, чем терапевтически эффективное количество.

[0464] Используемый в настоящем документе термин «субъект» или «индивидуум» относится к млекопитающему. В некоторых вариантах осуществления «млекопитающее» включает людей, приматов, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных в зоопарках, спортивных животных или домашних любимцев, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки, обезьяны и так далее. В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком.

[0465] Способы введения клеток для адоптивной клеточной терапии известны и могут быть использованы в сочетании с предложенными способами и композициями. Например, способы адоптивной Т-клеточной терапии описаны, например, в публикации патентной заявки США № 2003/0170238, авторов Gruenberg *et al.*; патенте США № 4690915, выданном Rosenberg; публикации Rosenberg (2011) *Nat Rev Clin Oncol.* 8(10):577-85). Смотри, например, Themeli *et al.*, (2013) *Nat Biotechnol.* 31(10): 928-933; Tsukahara *et al.*, (2013) *Biochem Biophys Res Commun* 438(1): 84-9; Davila *et al.*, (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338.

[0466] В число заболеваний, подлежащих лечению, входит любое заболевание или нарушение, связанное с ВСМА, или любое заболевание или нарушение, при котором ВСМА специфически экспрессируется, и/или при котором ВСМА является терапевтической мишенью (в настоящем документе также взаимозаменяемо называемое «ВСМА-связанным заболеванием или нарушением»). Виды рака, связанные с экспрессией ВСМА, включают гематологические злокачественные новообразования, такие как множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, а также как лимфома Ходжкина, так и неходжкинские лимфомы. Смотри Coquery *et al.*, *Crit Rev Immunol.*, 2012, 32(4):287-305 для обзора ВСМА. Поскольку ВСМА вовлечен в механизмы выживания опухолевых клеток, он является потенциальной мишенью для противораковой терапии. Химерные антигенные рецепторы, содержащие мышинные антитела против ВСМА человека, и клетки, экспрессирующие такие

химерные рецепторы, ранее описаны. Смотри Carpenter *et al.*, Clin Cancer Res., 2013, 19(8):2048-2060.

[0467] В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение, связанное с ВСМА, представляет собой заболевание, связанное с В-клетками. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение, связанное с ВСМА, представляет собой одно или более заболеваний или состояний из глиобластомы, лимфоматоидного гранулематоза, посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания, нарушения иммунной регуляции, болезни тяжелых цепей, первичного или связанного с патологией клеток иммунной системы амилоидоза, или моноклональной гаммопатии неустановленной этиологии.

[0468] В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение, связанное с ВСМА, представляет собой аутоиммунное заболевание или нарушение. Такие аутоиммунные заболевания или нарушения включают, но без ограничения, системную красную волчанку (SLE), волчаночный нефрит, воспалительное заболевание кишечника, ревматоидный артрит (например, ювенильный ревматоидный артрит), ANCA-ассоциированный васкулит, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП), тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (ТТП), аутоиммунную тромбоцитопению, болезнь Шагаса, болезнь Грэйва, гранулематоз Вегенера, узелковый полиартериит, синдром Шегрена, обыкновенную пузырчатку, склеродермию, рассеянный склероз, псориаз, IgA-нефропатию, IgM-полиневропатию, васкулит, сахарный диабет, синдром Рейно, антифосфолипидный синдром, болезнь Гудпасчера, болезнь Кавасаки, аутоиммунную гемолитическую анемию, миастению или прогрессирующий гломерулонефрит.

[0469] При определенных заболеваниях и состояниях ВСМА экспрессируется на злокачественных клетках и раковых тканях. В некоторых вариантах осуществления рак (например, ВСМА-экспрессирующий рак) представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления рак (например, ВСМА-экспрессирующий рак) представляет собой лимфому, лейкоз или злокачественное новообразование из плазматических клеток. Лимфомы, предусмотренные по настоящему изобретению, включают, но без ограничения, лимфому Беркитта (например, эндемичную лимфому Беркитта или спорадическую лимфому Беркитта), неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Ходжкина, макроглобулинемию Вальденстрема, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфому с нерассеченными ядрами, лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), лимфому из клеток маргинальной зоны, лимфому маргинальной зоны селезенки, узелковую моноцитопеническую В-клеточную лимфому, иммунобластную лимфому, крупноклеточную лимфому, диффузную смешанно-клеточную лимфому, легочную В-клеточную лимфангиому, мелколимфоцитарную лимфому, первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, лимфоплазматическую лимфому (LPL) или лимфому из клеток мантийной зоны (MCL). Лейкозы, предусмотренные по настоящему изобретению, включают, но без ограничения, хронический лимфоцитарный

лейкоз (CLL), плазмноклеточный лейкоз или острый лимфоцитарный лейкоз (ALL). По настоящему изобретению также предусмотрены злокачественные новообразования плазматических клеток, в том числе, но без ограничения, множественная миелома (например, несекретирующая множественная миелома, вялотекущая множественная миелома) или плазмацитомы. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние представляет собой множественную миелому (ММ), такую как рецидивирующая и/или рефрактерная множественная миелома (R/R ММ). В число заболеваний, нарушений или состояний, связанных с ВСМА (например, ВСМА-экспрессирующих форм рака), которые можно лечить, входят, но без ограничения, нейробластома, почечноклеточный рак, рак толстого кишечника, колоректальный рак, рак молочной железы, эпителиальный плоскоклеточный рак, меланома, миелома (например, множественная миелома), рак желудка, рак головного мозга, рак легкого, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, рак предстательной железы, рак яичка, рак щитовидной железы, рак тела матки, рак надпочечников и рак головы и шеи.

[0470] В некоторых вариантах осуществления способы позволяют идентифицировать субъекта, который имеет, предположительно имеет, или имеет риск развития ВСМА-связанного заболевания или нарушения. Таким образом, предложены способы идентификации субъектов, страдающих заболеваниями или нарушениями, связанными с повышенной экспрессией ВСМА, и выбора их для лечения при помощи предложенных ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов (например, CAR) и/или генетически модифицированных клеток, экспрессирующих рекомбинантные рецепторы.

[0471] Например, можно проводить скрининг субъекта на наличие заболевания или нарушения, связанного с повышенной экспрессией ВСМА, такого как ВСМА-экспрессирующий рак. В некоторых вариантах осуществления способы включают скрининг на, или обнаружение наличия ВСМА-связанного заболевания, например, опухоли. Таким образом, в некоторых аспектах можно получать образец от пациента, предположительно имеющего заболевание или нарушение, связанное с повышенной экспрессией ВСМА, и проводить анализ уровня экспрессии ВСМА. В некоторых аспектах субъект, положительный по результатам теста на ВСМА-связанное заболевание или нарушение, может быть выбран для лечения настоящими способами и ему может быть введено терапевтически эффективное количество рекомбинантного рецептора (например, CAR), содержащего ВСМА-связывающую молекулу, клеток, содержащих рекомбинантный рецептор, или их фармацевтической композиции, как описано в настоящем документе.

[0472] В некоторых вариантах осуществления субъект имеет стойкое или рецидивирующее заболевание, например, после лечения другим ВСМА-специфическим антителом и/или клетками, экспрессирующими нацеленный на ВСМА химерный рецептор, и/или другими видами терапии, включая химиотерапию, облучение и/или трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), например, аллогенную HSCT или аутологичную HSCT. В некоторых вариантах осуществления введение приводит к эффективному лечению субъекта, несмотря на развитие у субъекта устойчивости к другой

BCMA-таргетированной терапии. В некоторых вариантах осуществления у субъекта не произошел рецидив, но субъект имеет риск развития рецидива, например, высокий риск развития рецидива, и, таким образом, соединение или композицию вводят профилактически, например, для уменьшения вероятности или предотвращения рецидива.

[0473] В некоторых вариантах осуществления субъект является субъектом, которому может быть проведена трансплантация, например, которому может быть проведена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), например, аллогенная HSCT или аутологичная HSCT. В некоторых таких вариантах осуществления субъект ранее не получал трансплантат, хотя и подходил для трансплантации, до введения BCMA-связывающих молекул, включая анти-BCMA рекомбинантные рецепторы (например, CAR), генетически модифицированные клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы (например, CAR), множество генетически модифицированных клеток, экспрессирующих рецепторы, и/или содержащие их композиции, такие как предложенные в настоящем документе.

[0474] В некоторых вариантах осуществления субъект является субъектом, которому не может быть проведена трансплантация, например, не может быть проведена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), например, аллогенная HSCT или аутологичная HSCT. В некоторых таких вариантах осуществления такому субъекту вводят BCMA-связывающие молекулы, включая анти-BCMA рекомбинантные рецепторы (например, CAR), генетически модифицированные клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы (например, CAR), множество генетически модифицированных клеток, экспрессирующих рецепторы, и/или содержащие их композиции, в соответствии с предложенными в настоящем документе вариантами осуществления.

[0475] В некоторых вариантах осуществления до начала введения генетически модифицированных клеток субъект получал один или более предшествующих видов терапии. В некоторых вариантах осуществления субъект получал по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, или более, предшествующих видов терапии. В некоторых вариантах осуществления субъект получал по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, или более, предшествующих видов терапии.

[0476] В некоторых аспектах у субъекта происходит рецидив, или он невосприимчив к одному или более предшествующим видам терапии. В некоторых аспектах предшествующие виды терапии включают лечение при помощи аутологичного трансплантата стволовых клеток (ASCT); иммуномодулирующего средства; ингибитора протеасом и анти-CD38 антитела; за исключением случаев, когда субъект не являлся кандидатом, или имел противопоказания, для одного или более видов терапии. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство выбирают из талидомида, леналидомида или помалидомида. В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеасом выбирают из бортезомиба, карфилзомиба или иксазомиба. В некоторых вариантах осуществления анти-CD38 антитело представляет собой или содержит даратумумаб. В некоторых вариантах осуществления субъект должен был пройти по

меньшей мере 2 последовательных цикла лечения для каждого вида терапии, за исключением случаев, когда прогрессирующее заболевание было наилучшим ответом на схему лечения.

[0477] В некоторых вариантах осуществления способ позволяет включать или исключать конкретных субъектов из группы для получения терапии предложенными анти-BCMA антителами, рекомбинантными рецепторами и/или клетками, содержащими такие рецепторы, на основании конкретных критериев, диагноза или показаний. В некоторых вариантах осуществления при получении дозы клеток или предварительной лимфодеплеционной химиотерапии субъект не имел активный, или в анамнезе, плазмноклеточный лейкоз (PCL). В некоторых вариантах осуществления, если субъект имел активный, или в анамнезе, PCL при введении клеток, субъект может быть исключен из лечения, проводимого в соответствии с предложенными способами. В некоторых вариантах осуществления если у субъекта развивается PCL, например, вторичный PCL, при введении клеток, субъект может быть исключен из лечения, проводимого в соответствии с предложенными способами. В некоторых вариантах осуществления оценку для критериев, диагноза или показания можно проводить во время скрининга субъектов на возможность проведения, или пригодность, лечения в соответствии с предложенными способами, на разных этапах схемы лечения, в процессе получения лимфодеплеционной терапии и/или в процессе, или непосредственно до, начала введения генетически модифицированных клеток или их композиции.

[0478] В некоторых вариантах осуществления лечение не индуцирует иммунный ответ у субъекта на терапию и/или не индуцирует такой ответ в степени, которая обеспечивает предотвращение эффективного лечения заболевания или состояния. В некоторых аспектах степень иммуногенности и/или ответа «трансплантат против хозяина» является меньшей, чем степень, наблюдаемая при ином, но сопоставимом, лечении. Например, в случае адоптивной клеточной терапии с использованием клеток, экспрессирующих CAR, содержащий предложенные анти-BCMA антитела, степень иммуногенности в некоторых вариантах осуществления снижена в сравнении с использованием CAR, содержащего другое антитело, которое связывает аналогичный, например, перекрывающийся эпитоп, и/или которое конкурирует за связывание с BCMA с антителом, таким как мышинное или обезьянье, или кроличье, или гуманизированное антитело.

[0479] В некоторых вариантах осуществления способы включают адоптивную клеточную терапию, при которой генетически модифицированные клетки, экспрессирующие предложенные рекомбинантные рецепторы, содержащие BCMA-связывающую молекулу (например, CAR, содержащий анти-BCMA антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент), вводят субъектам. Такое введение может стимулировать активацию клеток (например, активацию Т-клеток) BCMA-направленным образом, так что клетки, связанные с заболеванием или нарушением, становятся мишенью для уничтожения.

[0480] Таким образом, предложенные способы и варианты применения включают

способы и варианты применения для адоптивной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение клеток или композиции, содержащей клетки, в ткань или клетку субъекту, например, имеющему, имеющему риск развития, или предположительно имеющему, заболевание, состояние или нарушение. В некоторых вариантах осуществления клетки, популяции и композиции вводят субъекту, имеющему конкретное заболевание или состояние, подлежащее лечению, например, путем адоптивной клеточной терапии, такой как адоптивная Т-клеточная терапия. В некоторых вариантах осуществления клетки или композиции вводят субъекту, такому как субъект, имеющий, или имеющий риск развития заболевания или состояния. В некоторых аспектах способы приводят к лечению, например, облегчению, одного или более симптомов заболевания или состояния, например, за счет уменьшения опухолевой нагрузки при ВСМА-экспрессирующем раке.

[0481] Методы введения клеток для адоптивной клеточной терапии известны и могут быть использованы в сочетании с предложенными способами и композициями. Например, методы адоптивной Т-клеточной терапии описаны, например, в публикации патентной заявки США № 2003/0170238, авторов Gruenberg *et al.*; патенте США № 4690915, выданном Rosenberg; публикации Rosenberg (2011) *Nat Rev Clin Oncol.* 8(10):577-85). Смотри, например, Themeli *et al.*, (2013) *Nat Biotechnol.* 31(10): 928-933; Tsukahara *et al.*, (2013) *Biochem Biophys Res Commun* 438(1): 84-9; Davila *et al.*, (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338.

[0482] В некоторых вариантах осуществления клеточную терапию, например, адоптивную клеточную терапию, например, адоптивную Т-клеточную терапию, осуществляют путем аутологичного переноса, при котором клетки выделяют и/или иным образом получают от субъекта, которому предстоит получать клеточную терапию, или из образца, полученного от такого субъекта. Таким образом, в некоторых аспектах клетки получают от субъекта, например, пациента, который нуждается в лечении, и клетки после выделения и обработки вводят тому же субъекту.

[0483] В некоторых вариантах осуществления клеточную терапию, например, адоптивную клеточную терапию, например, адоптивную Т-клеточную терапию, осуществляют путем аллогенного переноса, при котором клетки выделяют и/или иным образом получают от субъекта, иного, чем субъект, которому предстоит получать, или который в итоге получает, клеточную терапию, например, первого субъекта. В таких вариантах осуществления клетки затем вводят другому субъекту, например, второму субъекту, относящемуся к тому же биологическому виду. В некоторых вариантах осуществления первый и второй субъекты генетически идентичны. В некоторых вариантах осуществления первый и второй субъекты имеют генетическое сходство. В некоторых вариантах осуществления у второго субъекта экспрессируются молекулы того же класса или супертипа HLA, что и у первого субъекта.

[0484] В некоторых вариантах осуществления субъект, которому вводят клетки, клеточные популяции или композиции, является приматом, таким как человек. В некоторых

вариантах осуществления субъект, которому вводят клетки, клеточные популяции или композиции, является приматом, отличным от человека. В некоторых вариантах осуществления примат, отличный от человека, является обезьяной (например, яванским макаком) или человекообразной обезьяной. Субъект может быть мужчиной или женщиной, и может иметь любой возраст, включая младенца, ребенка, подростка, взрослого или пожилого субъектов. В некоторых вариантах осуществления субъект является млекопитающим, отличным от приматов, например, грызуном (например, мышью, крысой и так далее). В некоторых примерах пациент или субъект является достоверной животной моделью для заболевания, адоптивной клеточной терапии и/или для оценки токсических последствий, таких как синдром высвобождения цитокинов (CRS).

[0485] ВСМА-связывающие молекулы, такие как рекомбинантные рецепторы (например, CAR), и экспрессирующие их клетки можно вводить любым подходящим способом, например, инъекцией, например, внутривенной или подкожной инъекцией, внутриглазной инъекцией, окологлазной инъекцией, субретинальной инъекцией, интравитреальной инъекцией, трансептальной инъекцией, субсклеральной инъекцией, интрахориоидальной инъекцией, внутрикамерной инъекцией, субконъюнктивальной инъекцией, субконъюнктивальной инъекцией, субтеноновой инъекцией, ретробульбарной инъекцией, перibuльбарной инъекцией или задним окологсклеральным введением. В некоторых вариантах осуществления клетки вводят парентеральным, внутрилегочным и интраназальным путем введения и, если это необходимо для локального лечения, внутриочаговым путем введения. Парентеральные инфузии включают внутримышечный, внутривенный, внутриартериальный, внутрибрюшинный или подкожный пути введения. Дозы и пути введения могут частично зависеть от того, является ли введение краткосрочным или хроническим. Различные схемы введения доз включают, но не ограничиваются ими, однократные или множественные введения в различные моменты времени, болюсное введение и импульсную инфузию.

[0486] Для предотвращения или лечения заболевания соответствующая дозировка связывающих молекул, рекомбинантных рецепторов или клеток может зависеть от типа заболевания, которое предстоит лечить, типа связывающей молекулы или рекомбинантного рецептора, степени тяжести и течения заболевания, от того, вводят ли связывающую молекулу или рекомбинантный рецептор с профилактической или терапевтической целью, от предыдущей терапии, клинической истории субъекта и его ответа на рекомбинантный рецептор или клетки, а также от решения лечащего врача. В некоторых вариантах осуществления композиции и молекулы, и клетки предпочтительно вводят пациенту однократно или в серии процедур.

[0487] В некоторых вариантах осуществления дозу и/или частоту введения определяют на основании эффективности и/или ответа. В некоторых вариантах осуществления эффективность определяют путем оценки статуса заболевания. Иллюстративные способы оценки статуса заболевания включают: количественное определение белка М в биологических жидкостях, таких как кровь и/или моча, методом

электрофореза и иммунофиксации; количественное определение sFLC ( $\kappa$  и  $\lambda$ ) в крови; исследование скелета; и визуализация методом позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ)/компьютерной томографии (КТ) у субъектов с экстрамедуллярным заболеванием. В некоторых вариантах осуществления статус заболевания можно оценивать путем анализа костного мозга. В некоторых примерах дозу и/или частоту введения определяют на основании размножения и персистенции рекомбинантного рецептора или клетки в крови и/или костном мозге. В некоторых вариантах осуществления дозу и/или частоту введения определяют на основании противоопухолевой активности рекомбинантного рецептора или генетически модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления противоопухолевую активность определяют на основании общей частоты ответа (ОЧО) и/или на основании универсальных критериев ответа, разработанных Международной рабочей группой по изучению миеломы (IMWG) (смотри Kumar *et al.* (2016) *Lancet Oncol* 17(8):e328-346). В некоторых вариантах осуществления ответ оценивают путем оценки минимального остаточного заболевания (МОЗ). В некоторых вариантах осуществления МОЗ можно оценивать такими методами, как проточная цитометрия и высокопроизводительное секвенирование, например, глубокое секвенирование. В некоторых вариантах осуществления ответ оценивают на основании продолжительности ответа после введения рекомбинантного рецептора или клеток. В некоторых примерах доза и/или частота введения может зависеть от токсичности. В некоторых вариантах осуществления дозу и/или частоту введения можно определять на основании связанного с состоянием здоровья качества жизни (СЗКЖ) субъекта, которому вводят рекомбинантный рецептор и/или клетки. В некоторых вариантах осуществления дозу и/или частоту введения можно изменять, то есть, увеличивать или уменьшать, в зависимости от любого из перечисленных выше критериев.

[0488] В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение, которое предстоит лечить, представляет собой множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления поддающиеся измерению критерии заболевания для множественной миеломы могут включать: (1) М-белок в сыворотке 1 г/дл или более; (2) М-белок в моче 200 мг или более/24 часа; (3) определяемый уровень в сыворотке свободных легких цепей (sFLC) 10 мг/дл или более, с аномальным соотношением  $\kappa$  и  $\lambda$ . В некоторых случаях болезнь легких цепей приемлема только для субъектов без измеряемых признаков заболевания в сыворотке или в моче.

[0489] В некоторых вариантах осуществления можно использовать показатель общесоматического статуса, разработанный Восточной кооперативной группой онкологов (ECOG), для оценки или выбора субъектов для лечения, например, субъектов, для которых предшествующие методы лечения были неэффективными (смотри, например, Oken *et al.* (1982) *Am J Clin Oncol.* 5:649-655). Шкала общесоматического статуса ECOG описывает функциональный уровень пациентов в отношении их способности заботиться о себе, суточной активности и физической активности (например, способности ходить, работать и так далее). В некоторых вариантах осуществления показатель по шкале общесоматического

статуса ECOG, равный 0, указывает на то, что субъект может иметь нормальную активность. В некоторых аспектах субъекты с показателем по шкале общесоматического статуса ECOG, равным 1, имеют некоторые ограничения активности, но субъекты являются полностью амбулаторными пациентами. В некоторых аспектах пациенты с показателем по шкале общесоматического статуса ECOG, равным 2, более чем на 50% являются амбулаторными пациентами. В некоторых случаях субъект с показателем по шкале общесоматического статуса ECOG, равным 2, также может быть способен заботиться о себе; смотри, например, Sørensen *et al.*, (1993) *Br J Cancer* 67(4) 773-775. В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые будут получать лечение в соответствии со способами или схемами лечения, предложенными в настоящем документе, включают субъектов с показателем по шкале общесоматического статуса ECOG, равным 0 или 1.

[0490] В некоторых вариантах осуществления введение клеток может результативно лечить субъекта, даже если субъект приобрел устойчивость к другим видам терапии. В некоторых вариантах осуществления при введении субъектам в соответствии с вариантами осуществления, описанными в настоящем документе, доза или композиция способна приводить к объективному ответу (ОО) у по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% субъектов, которым ее вводили. В некоторых вариантах осуществления субъекты с ОО включают субъектов, у которых достигнут строгий полный ответ (сПО), полный ответ (ПО), очень хороший частичный ответ (ОХЧО), частичный ответ (ЧО) и минимальный ответ (МО). В некоторых вариантах осуществления при введении субъектам в соответствии с вариантами осуществления, описанными в настоящем документе, доза или композиция способна приводить к достижению строгого полного ответа (сПО), полного ответа (ПО), очень хорошего частичного ответа (ОХЧО) или частичного ответа (ЧО) у по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80% или 85% субъектов, которым ее вводили. В некоторых вариантах осуществления при введении субъектам в соответствии с вариантами осуществления, описанными в настоящем документе, доза или композиция способна приводить к достижению строгого полного ответа (сПО) или полного ответа (ПО) у по меньшей мере 20%, 30%, 40% 50%, 60% или 70% субъектов, которым ее вводили. В некоторых вариантах осуществления иллюстративные дозы включают примерно  $5,0 \times 10^7$ ,  $1,5 \times 10^8$ ,  $3,0 \times 10^8$  или  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых аспектах конкретный ответ на лечение, например, способами, предложенными в настоящем документе, может быть оценен на основании универсальных критериев ответа, разработанных Международной рабочей группой по изучению миеломы (IMWG) (смотри Kumar *et al.* (2016) *Lancet Oncol* 17(8):e328-346). В некоторых вариантах осуществления иллюстративные дозы для достижения конкретных результатов, таких как ОО, включают примерно  $5,0 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

[0491] В некоторых вариантах осуществления токсичность и/или побочные эффекты лечения можно контролировать и использовать для корректировки дозы и/или частоты введения рекомбинантного рецептора, например, CAR, клеток и/или композиций. Например, нежелательные явления и аномалии лабораторных показателей можно

контролировать и использовать для корректировки дозы и/или частоты введения. Нежелательные явления включают реакции на инфузию, синдром высвобождения цитокинов (CRS), нейротоксичность, синдром активации макрофагов и синдром лизиса опухоли (TLS). Любые из этих явлений могут являться ограничивающими дозу видами токсичности и приводить к уменьшению дозы и/или прекращению лечения. Другие побочные эффекты или нежелательные явления, которые можно принимать во внимание при установлении дозы и/или частоты введения, включают не гематологические нежелательные явления, которые включают, но не ограничиваются ими, утомляемость, лихорадку или фебрильную нейтропению, увеличение уровня трансаминаз в течение установленного срока (например, в течение менее чем или ровно 2 недель, или менее чем или ровно 7 дней), головную боль, боль в костях, гипотонию, гипоксию, озноб, диарею, тошноту/рвоту, нейротоксичность (например, спутанность сознания, афазия, судороги, конвульсии, вялость и или изменение психического статуса), диссеминированную внутрисосудистую коагуляцию, другие бессимптомные не гематологические клинические лабораторные аномалии, такие как нарушение уровня электролитов. Другие побочные эффекты или нежелательные явления, которые можно принимать во внимание при установлении дозы и/или частоты введения, включают гематологические нежелательные явления, которые включают, но не ограничиваются ими, нейтропению, лейкопению, тромбоцитопению, анемию и/или В-клеточную аплазию и гипогаммаглобинемию.

[0492] В некоторых вариантах осуществления лечение в соответствии с предложенными способами может приводить к более низкому уровню и/или более низкой степени токсичности, токсического исхода или симптома, стимулирующего токсичность профиля, фактора или свойства, например, симптома или исхода, связанного с, или являющегося показателем синдрома высвобождения цитокинов (CRS) или нейротоксичности, например, тяжелого CRS или тяжелой нейротоксичности, например, в сравнении с применением других видов терапии.

[0493] В конкретных вариантах осуществления, в контексте генетически модифицированных клеток, содержащих связывающие молекулы или рекомбинантные рецепторы, субъекту вводят от примерно одного миллиона до примерно 100 миллиардов клеток, и/или количество клеток в расчете на килограмм массы тела, такое как, например, от 1 миллиона до примерно 50 миллиардов клеток (например, примерно 5 миллионов клеток, примерно 25 миллионов клеток, примерно 500 миллионов клеток, примерно 1 миллиард клеток, примерно 5 миллиардов клеток, примерно 20 миллиардов клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 40 миллиардов клеток, или в диапазоне, определяемом любыми двумя из перечисленных значений), например, от примерно 10 миллионов до примерно 100 миллиардов клеток (например, примерно 20 миллионов клеток, примерно 30 миллионов клеток, примерно 40 миллионов клеток, примерно 60 миллионов клеток, примерно 70 миллионов клеток, примерно 80 миллионов клеток, примерно 90 миллионов клеток, примерно 10 миллиардов клеток, примерно 25 миллиардов клеток, примерно 50 миллиардов клеток, примерно 75 миллиардов клеток, примерно 90

миллиардов клеток, или в диапазоне, определяемом любыми двумя из перечисленных значений), и в некоторых случаях от примерно 100 миллионов клеток до примерно 50 миллиардов клеток (например, примерно 120 миллионов клеток, примерно 150 миллионов клеток, примерно 250 миллионов клеток, примерно 300 миллионов клеток, примерно 350 миллионов клеток, примерно 450 миллионов клеток, примерно 500 миллионов клеток, примерно 600 миллионов клеток, примерно 650 миллионов клеток, примерно 800 миллионов клеток, примерно 900 миллионов клеток, примерно 1 миллиард клеток, примерно 1,2 миллиарда клеток, примерно 3 миллиарда клеток, примерно 30 миллиардов клеток, примерно 45 миллиардов клеток или примерно 50 миллиардов клеток) или любое промежуточное значение в данных диапазонах, и/или в расчете на килограмм массы тела. Опять-таки, дозы могут варьироваться в зависимости от характерных особенностей заболевания или нарушения и/или пациента, и/или других видов лечения.

[0494] В некоторых вариантах осуществления способы включают введение дозы генетически модифицированных клеток или композиции, содержащей дозу генетически модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления генетически модифицированные клетки или композиции, содержащие генетически модифицированные клетки, можно использовать в схеме лечения, при этом схема лечения включает введение дозы генетически модифицированных клеток или композиции, содержащей дозу генетически модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления доза может содержать, например, конкретное количество или диапазон количеств экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, суммарных Т-клеток или суммарных мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), любое количество таких клеток, описанное в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления можно вводить композицию, содержащую дозу клеток. В некоторых аспектах число, количество или относительное количество CAR-экспрессирующих клеток в клеточной популяции или клеточной композиции можно оценивать путем определения суррогатного маркера, например, методом проточной цитометрии или другими методами, или путем определения связывания меченой молекулы, такой как меченый антиген, который специфически связывается со связывающими молекулами или рецепторами, предложенными в настоящем документе.

[0495] В некоторых вариантах осуществления, например, когда субъект является человеком, доза включает более примерно  $1 \times 10^6$  суммарных экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) клеток, Т-клеток или мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) и менее примерно  $2 \times 10^9$  суммарных экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) клеток, Т-клеток или мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), например, в диапазоне от примерно  $2,5 \times 10^7$  до примерно  $1,2 \times 10^9$  таких клеток, например,  $2,5 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1,5 \times 10^8$ ,  $3 \times 10^8$ ,  $4,5 \times 10^8$ ,  $8 \times 10^8$  или  $1,2 \times 10^9$  суммарно таких клеток, или в диапазоне между любыми двумя из вышеперечисленных значений.

[0496] В некоторых вариантах осуществления доза генетически модифицированных

клеток содержит от или от примерно  $2,5 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, суммарных Т-клеток или суммарных моноклеарных клеток периферической крови (МКПК), до или до примерно  $1,2 \times 10^9$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, суммарных Т-клеток или суммарных МКПК, от или от примерно  $5,0 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, суммарных Т-клеток или суммарных моноклеарных клеток периферической крови (МКПК), от или от примерно  $1,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $3,0 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, суммарных Т-клеток или суммарных МКПК, в каждом случае включительно. В некоторых вариантах осуществления число означает общее число CD3+ или CD8+, в некоторых случаях также CAR-экспрессирующих (например, CAR+) клеток. В некоторых вариантах осуществления доза содержит количество клеток от или от примерно  $2,5 \times 10^7$  до или до примерно  $1,2 \times 10^9$  CD3+ или CD8+ суммарных Т-клеток или CD3+ или CD8+ CAR-экспрессирующих клеток, от или от примерно  $5,0 \times 10^7$  до или до примерно  $4,5 \times 10^8$  CD3+ или CD8+ суммарных Т-клеток или CD3+ или CD8+ CAR-экспрессирующих клеток, или от или от примерно  $1,5 \times 10^8$  до или до примерно  $3,0 \times 10^8$  CD3+ или CD8+ суммарных Т-клеток или CD3+ или CD8+ CAR-экспрессирующих клеток, в каждом случае включительно.

[0497] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки дозы включают CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки или CD4+ и CD8+ Т-клетки.

[0498] В некоторых вариантах осуществления, например, когда субъект является человеком, CD8+ Т-клетки дозы, содержащиеся в дозе, содержащей CD4+ и CD8+ Т-клетки, составляют от или от примерно  $1 \times 10^6$  до или до примерно  $2 \times 10^9$  суммарных экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) CD8+ клеток, например, в диапазоне от или от примерно  $5 \times 10^7$  до или до примерно  $4,5 \times 10^8$  таких клеток, например, всего ровно или примерно  $2,5 \times 10^7$ , ровно или примерно  $5 \times 10^7$ , ровно или примерно  $1,5 \times 10^8$ , ровно или примерно  $3 \times 10^8$ , ровно или примерно  $4,5 \times 10^8$ , ровно или примерно  $8 \times 10^8$  или ровно или примерно  $1,2 \times 10^9$  таких клеток, или в диапазоне между любыми двумя из вышеперечисленных значений.

[0499] В некоторых вариантах осуществления дозу клеток, например, экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, вводят субъекту в виде одной дозы, или вводят только один раз в течение двух недель, одного месяца, трех месяцев, шести месяцев, 1 года или более. В некоторых вариантах осуществления пациенту вводят несколько доз, и каждая из доз, или суммарная доза, может находиться в пределах вышеуказанных значений. В некоторых вариантах осуществления генетически модифицированные клетки для введения или композиция генетически модифицированных клеток для введения, имеют свойства, являющиеся показателями или свойственные здоровым клеткам. В некоторых вариантах осуществления ровно или примерно, или по меньшей мере, или по меньшей мере примерно 70, 75, 80, 85 или 90% CAR+ клеток в такой дозе имеют одно или более свойств или фенотипов, являющихся показателями клеточного здоровья или биологической активности CAR+ клеток, например, отсутствие экспрессии маркера апоптоза.

[0500] В конкретных вариантах осуществления фенотип представляет собой или включает отсутствие апоптоза и/или признаков того, что клетка подвергается апоптозу. Апоптоз представляет собой процесс программируемой клеточной гибели, который включает серию стереотипных морфологических и биохимических событий, приводящих к характерным клеточным изменениям и гибели, включая пузырение, уменьшение клеток в размерах, фрагментацию ядра, конденсацию хроматина, фрагментацию хромосомной ДНК и масштабный распад мРНК. В некоторых аспектах на ранние стадии апоптоза может указывать активация некоторых каспаз, например, 2, 8, 9 и 10. В некоторых аспектах средние и поздние стадии апоптоза характеризуются дальнейшей потерей целостности мембраны, конденсацией хроматина и фрагментацией ДНК, включая такие биохимические явления, как активация каспаз 3, 6 и 7.

[0501] В конкретных вариантах осуществления фенотип является отрицательным по экспрессии одного или более факторов, связанных с программируемой клеточной гибелью, например, проапоптотических факторов, которые, как известно, инициируют апоптоз, например, членов пути рецептора смерти, активированных членов митохондриального (внутреннего) пути, таких как члены семейства Bcl-2, например, Bax, Bad и Bid, и каспаз. В конкретных вариантах осуществления фенотип представляет собой отсутствие индикатора, например, молекулы аннексина V или окрашивания TUNEL, при котором краситель предпочтительно связывает клетки, претерпевающие апоптоз, при инкубации, или контакте, с клеточной композицией. В некоторых вариантах осуществления фенотип представляет собой или включает экспрессию одного или более маркеров, которые являются показателями апоптотического состояния клетки. В некоторых вариантах осуществления фенотип представляет собой отсутствие экспрессии и/или активации каспазы, такой как каспаза 3. В некоторых аспектах активация каспазы-3 является показателем усиления или возрождения апоптоза. В конкретных вариантах осуществления активацию каспазы можно определять известными методами. В некоторых вариантах осуществления для обнаружения активации каспазы можно использовать антитело, которое специфически связывает активированную каспазу (то есть, специфически связывает расщепленный полипептид). В конкретных вариантах осуществления фенотип представляет собой или включает наличие активной каспазы 3. В некоторых вариантах осуществления маркером апоптоза является реагент, позволяющий обнаруживать в клетке признак, связанный с апоптозом. В конкретных вариантах осуществления реагент представляет собой молекулу аннексина V.

[0502] В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие генетически модифицированные клетки для введения, содержат определенное число или количество клеток, имеющих фенотипы, показательные или характерные для клеточного здоровья. В некоторых из любых вариантов осуществления менее чем примерно 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% CAR-экспрессирующих Т-клеток в дозе генетически модифицированных Т-клеток экспрессируют маркер апоптоза, необязательно, аннексин V или активную каспазу 3. В некоторых из любых вариантов осуществления

менее чем 5%, 4%, 3%, 2% или 1% CAR-экспрессирующих Т-клеток в дозе генетически модифицированных Т-клеток экспрессируют аннексин V или активную каспазу 3.

[0503] В некоторых вариантах осуществления вводимые клетки представляют собой иммунные клетки, генетически модифицированные для экспрессии ВСМА-связывающего рекомбинантного рецептора, например, CAR. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки представляют собой Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления вводимые клетки представляют собой CD4<sup>+</sup> Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления вводимые клетки представляют собой CD8<sup>+</sup> Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления вводимые клетки представляют собой сочетание CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток, например, сочетание CD4<sup>+</sup> CAR Т-клеток и CD8<sup>+</sup> CAR Т-клеток, которые в некоторых аспектах находятся в одном и том же сосуде или клеточной композиции, или суспензии. В некоторых примерах соотношение вводимых CD4<sup>+</sup> клеток и CD8<sup>+</sup> клеток (CD4:CD8), например, соотношение в суспензии или композиции, или сосуде, составляет 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1. В некоторых вариантах осуществления соотношение составляет от 1:3 до 3:1, или составляет от или от примерно 1:4 до или до примерно 4:1, или от или от примерно 1:3 до или до примерно 3:1, или от или от примерно 1:2 до или до примерно 2:1, или любое из таких соотношений в пределах допустимой ошибки. В некоторых аспектах у субъектов, получающих лечение, и/или субъектов, от которых образцы были получены и обработаны для получения клеточных композиций, соотношение CD4<sup>+</sup> CAR-Т-клеток и CD8<sup>+</sup> CAR-Т-клеток, или соотношение CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клеток находится в нужном диапазоне, например, от или от примерно 1:4 до или до примерно 4:1, или от или от примерно 1:3 до или до примерно 3:1, или от или от примерно 1:2 до или до примерно 2:1, или в пределах такого нужного соотношения у конкретной процентной доли таких субъектов, например, у по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75% или по меньшей мере 80%, или по меньшей мере 85%, или по меньшей мере 90%, или по меньшей мере 95%, таких субъектов.

[0504] В некоторых вариантах осуществления клетки, связывающие молекулы или рекомбинантные рецепторы вводят в виде части комбинированной терапии, например, одновременно или последовательно, в любом порядке, с другим терапевтическим вмешательством, например, с использованием другого антитела или генетически модифицированной клетки, или рецептора, или средства, такого как цитотоксическое или терапевтическое средство.

[0505] Клетки, связывающие молекулы и/или рекомбинантные рецепторы в некоторых вариантах осуществления вводят совместно с одним или более дополнительными терапевтическими средствами или в сочетании с другим терапевтическим вмешательством, либо одновременно, либо последовательно, в любом порядке. В некоторых контекстах клетки вводят совместно с другим видом терапии достаточно близко во времени, так что клеточные популяции усиливают эффект одного или более дополнительных терапевтических средств, или наоборот. В некоторых вариантах

осуществления клетки, связывающие молекулы и/или рекомбинантные рецепторы вводят до введения одного или более дополнительных терапевтических средств. В некоторых вариантах осуществления клетки, связывающие молекулы и/или рекомбинантные рецепторы вводят после введения одного или более дополнительных терапевтических средств.

[0506] В некоторых вариантах осуществления субъект может получать переходную терапию после лейкафереза и до лимфодеплеционной химиотерапии. Лечащий врач может определять, является ли переходная терапия необходимой, например, для контролирования заболевания, в процессе производства предложенной композиции или клеток. В некоторых вариантах осуществления переходная терапия не включает использование биологических средств, таких как антитела (например, даратумумаб). В некоторых вариантах осуществления переходную терапию прекращают до начала лимфодеплеции. В некоторых вариантах осуществления переходную терапию прекращают за 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 7 дней, 10 дней, 14 дней, 21 день, 28 дней, 45 дней или 60 дней до лимфодеплеции.

[0507] В некоторых аспектах после того, как клетки ввели млекопитающему (например, человеку), биологическую активность популяций генетически модифицированных клеток и/или антител измеряют любым из целого ряда известных методов. Параметры для оценки включают специфическое связывание генетически модифицированных или природных Т-клеток или других иммунных клеток с антигеном *in vivo*, например, путем визуализации, или *ex vivo*, например, методом ELISA или проточной цитометрии. В конкретных вариантах осуществления способность генетически модифицированных клеток уничтожать клетки-мишени можно определять с использованием любого подходящего метода, известного в данной области, такого как анализы цитотоксичности, описанные, например, в Kochenderfer *et al.*, *J. Immunotherapy*, 32(7): 689-702 (2009), и Herman *et al.* *J. Immunological Methods*, 285(1): 25-40 (2004). В конкретных вариантах осуществления биологическую активность клеток также можно определять путем анализа экспрессии и/или секреции определенных цитокинов, таких как CD107a, IFN $\gamma$ , IL-2 и TNF. В некоторых аспектах биологическую активность определяют путем оценки клинического результата, такого как уменьшение опухолевой нагрузки или бремени.

[0508] В конкретных вариантах осуществления генетически модифицированные клетки модифицируют любым из множества способов, так что их терапевтическая или профилактическая эффективность повышается. Например, генетически модифицированные CAR или TCR, экспрессируемые в популяции клеток, в некоторых вариантах осуществления конъюгированы либо непосредственно, либо опосредованно через линкер, с направляющим фрагментом. Практика конъюгации соединения, например, CAR или TCR, с направляющими фрагментами известна в данной области. См. например, Wadwa *et al.*, *J. Drug Targeting*, 3(2):111 (1995) и патент США 5087616.

## **В. Комбинированная терапия**

[0509] Также предложены способы комбинированной терапии, включающие

введение, и варианты применения, например, терапевтического и профилактического применения, ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов (например, CAR), генетически модифицированных клеток, экспрессирующих рекомбинантные рецепторы (например, CAR), множества генетически модифицированных клеток, экспрессирующих рецепторы, и/или содержащих их композиции.

[0510] В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающий рекомбинантный рецептор (например, химерный антигенный рецептор) и/или генетически модифицированные клетки, экспрессирующие указанные молекулы (например, рекомбинантный рецептор), описанные в настоящем документе, вводят в виде части комбинированного лечения или комбинированной терапии, например, одновременно, последовательно, попеременно, в любом порядке, с одним или более дополнительными терапевтическими вмешательствами. В некоторых вариантах осуществления одно или более дополнительных терапевтических вмешательств включают, например, использование антитела, генетически модифицированной клетки, рецептора и/или средства, например, клетки, экспрессирующей рекомбинантный рецептор, и/или цитотоксического или терапевтического средства, например, химиотерапевтического средства. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает применение одного или более дополнительных средств, видов терапии и/или терапевтических средств, например, любого из дополнительных средств, видов терапии и/или терапевтических средств, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение одного или более дополнительных средств для лечения или терапии, таких как иммуномодулирующее средство, ингибитор иммунных контрольных точек, антагонист, или агонист, пути аденозина или рецептора аденозина и ингибиторы киназы. В некоторых вариантах осуществления комбинированное лечение или комбинированная терапия включает дополнительный вид лечения, такой как хирургическое вмешательство, трансплантация и/или лучевая терапия. Также предложены способы комбинированного лечения или комбинированной терапии, включающие использование ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов (например, CAR), клеток и/или композиций, описанных в настоящем документе, и одного или более дополнительных терапевтических вмешательств.

[0511] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство для комбинированного лечения или комбинированной терапии усиливает, повышает и/или стимулирует эффективность и/или безопасность терапевтического действия связывающих молекул, рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство вызывает усиление или повышение эффективности, выживания или персистенции вводимых клеток, например, клеток, экспрессирующих связывающую молекулу или рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство выбирают из ингибитора протеинфосфатазы, ингибитора киназы, цитокинов, иммуномодулятора или средства, которое снижает уровень или активность регуляторных Т-клеток (Treg). В некоторых

вариантах осуществления дополнительное средство способствует повышению безопасности за счет уменьшения или ослабления неблагоприятных эффектов введенных связывающих молекул, рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может лечить то же заболевание, состояние или сопутствующее заболевание. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может ослаблять, уменьшать или устранять один или более видов токсичности, неблагоприятных эффектов или побочных эффектов, связанных с введением рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций, например, CAR-экспрессирующих клеток.

[0512] В некоторых вариантах осуществления анальгезирующее средство, такие как ацетаминофен, или антигистаминный препарат, такой как дифенгидрамин, можно вводить до, в процессе или после введения рекомбинантного рецептора, клетки или композиции, предложенных в настоящем документе, для ослабления или уменьшения, или устранения небольших побочных эффектов, связанных с лечением. В некоторых примерах можно проводить переливание эритроцитов и тромбоцитов, и/или вводить колониестимулирующие факторы для уменьшения или устранения одного или более видов токсичности, неблагоприятных эффектов или побочных эффектов, связанных с введением рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций, например, CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления можно вводить профилактические или эмпирические антиинфекционные средства (например, триметоприм/сульфаметоксазол для профилактики пневмоцистной пневмонии [PCP], антибиотики широкого спектра, противогрибковые или противовирусные средства против фебрильной нейтропении) для устранения побочных эффектов, связанных с лечением. В некоторых примерах, при необходимости, можно проводить профилактику лимфопении и/или нейтропении, возникающих в результате лечения.

[0513] В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия, лечение или средство включают химиотерапию, лучевую терапию, хирургическое вмешательство, трансплантацию, адоптивную клеточную терапию, антитела, цитотоксические средства, химиотерапевтические средства, цитокины, ингибирующие рост средства, антигормональные средства, ингибиторы киназы, антиангиогенные средства, кардиопротекторы, иммуностимулирующие средства, иммунодепрессанты, ингибиторы иммунных контрольных точек, антибиотики, ингибиторы ангиогенеза, модуляторы метаболизма или другие терапевтические средства, или любое их сочетание. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой белок, пептид, нуклеиновую кислоту, низкомолекулярное средство, клетку, токсин, липид, углевод, или их сочетания, или терапевтическое средство любого другого вида, например, излучение. В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия, средство или лечение включает хирургическое вмешательство, химиотерапию, лучевую терапию, трансплантацию, введение клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, например, CAR, ингибитор киназы, ингибитор иммунных контрольных точек, ингибитор

пути mTOR, иммунодепрессанты, иммуномодуляторы, антитела, иммунодеструктивные средства, антитела и/или их антигенсвязывающие фрагменты, конъюгаты антител, другие терапевтические средства на основе антител, цитотоксины, стероиды, цитокины, пептидные вакцины, гормональную терапию, антиметаболиты, модуляторы метаболизма, лекарственные средства, ингибирующие либо кальций-зависимую фосфатазу кальциневрин или p70S6 киназу FK506), либо ингибирующие p70S6 киназу, алкилирующие средства, антрациклины, алкалоиды барвинка, ингибиторы протеасом, агонисты G1TR, ингибиторы протеинтирозинфосфатазы, ингибиторы протеинкиназы, онколитический вирус и/или другие виды иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство или лечение представляет собой трансплантацию костного мозга, T-клеточную аблативную терапию с использованием химиотерапевтических средств, таких как флударабин, дистанционную лучевую терапию (XRT), циклофосфамид и/или терапевтические антитела.

[0514] В некоторых вариантах осуществления клетки, ВСМА-связывающие рекомбинантные рецепторы и/или композиции, например, CAR-экспрессирующие клетки, вводят в сочетании с другими генетически модифицированными клетками, например, другими CAR-экспрессирующими клетками. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор киназы, например, ингибитор тирозинкиназы Брутона (Btk), например, ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой антагонист, или агонист, пути аденозина или рецептора аденозина. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой иммуномодулятор, такой как талидомид или производное талидомида (например, леналидомид). В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор гамма-секретазы, например, ингибитор гамма-секретазы, который ингибирует или уменьшает внутримембранное расщепление мишени гамма-секретазы, например, ВСМА, на клетке (такой как опухолевая/раковая клетка). В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия, средство или лечение представляет собой цитотоксическое или химиотерапевтическое средство, биологическое терапевтическое средство (например, антитело, например, моноклональное антитело или клеточное терапевтическое средство) или ингибитор (например, ингибитор киназы).

[0515] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой химиотерапевтическое средство. Иллюстративные химиотерапевтические средства включают антрациклин (например, доксорубицин, такой как липосомный доксорубицин); алкалоид барвинка (например, винбластин, винкрестин, виндезин, винорелбин); алкилирующее средство (например, циклофосфамид, декарбазин, мелфалан, ифосфамид, темозололмид); антитело иммунной клетки (например, алемтузумаб, гемтузумаб, ритуксимаб, тозитумомаб); антиметаболит (включая, например, антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пиримидина, аналоги пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы, такие как флударабин); агонист глюкокортикоид-индуцированного

TNFR-связанного белка (GITR); ингибитор протеасом (например, аклациномицин А, глитоксин или бортезомиб); иммуномодулятор, такой как талидомид или производное талидомида (например, леналидомид).

[0516] В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия или лечение представляет собой клеточную терапию, например, адоптивную клеточную терапию. В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия включает введение генетически модифицированных клеток, например, дополнительных CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления дополнительная генетически модифицированная клетка представляет собой CAR-экспрессирующую клетку, экспрессирующую такой же, или иной, рекомбинантный рецептор, в сравнении с генетически модифицированными клетками, предложенными в настоящем документе, например, анти-BCMA CAR-экспрессирующими клетками. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, например, CAR, экспрессируемый на дополнительной генетически модифицированной клетке, узнает иной антиген и/или эпитоп. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, например, CAR, экспрессируемый на дополнительной генетически модифицированной клетке, узнает другой эпитоп того же антигена, что и рекомбинантные рецепторы, описанные в настоящем документе, например, BCMA. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, например, CAR, экспрессируемый на дополнительной генетически модифицированной клетке, узнает другой антиген, например, другой опухолевый антиген, или сочетание антигенов. Например, в некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, например, CAR, экспрессируемый на дополнительной генетически модифицированной клетке, нацелен на раковые клетки, которые экспрессируют ранние маркеры линии дифференцировки, например, раковые стволовые клетки, в то время как другие CAR-экспрессирующие клетки нацелены на раковые клетки, которые экспрессируют поздние маркеры линии дифференцировки. В таких вариантах осуществления дополнительные генетически модифицированные клетки вводят до, одновременно с, или после введения (например инфузии) CAR-экспрессирующих клеток, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления дополнительные генетически модифицированные клетки экспрессируют аллогенный CAR.

[0517] В некоторых вариантах осуществления конфигурации одной или более молекул CAR включают основной внутриклеточный сигнальный домен и два или более, например, 2, 3, 4 или 5 или более, костимулирующих сигнальных доменов. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул CAR могут иметь одинаковые или разные основные внутриклеточные сигнальные домены, одинаковые или разные костимулирующие сигнальные домены, или одинаковое количество или разное количество костимулирующих сигнальных доменов. В некоторых вариантах осуществления одна или более из молекул CAR могут быть сконфигурированы в виде расщепленного CAR, в котором одна из молекул CAR содержит антигенсвязывающий домен и костимулирующий домен (например, 4-1BB), при этом другая молекула CAR содержит антигенсвязывающий

домен и основной внутриклеточный сигнальный домен (например, CD3-дзета).

[0518] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой любую из клеток, генетически модифицированных для экспрессии одной или более из анти-BCMA связывающих молекул, и/или клеток, генетически модифицированных для экспрессии дополнительных связывающих молекул, например, рекомбинантных рецепторов, например, CAR, которые нацелены на другой антиген. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает любые из клеток, или множеств клеток, описанных в настоящем документе, например, в разделе I.C. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой клетку, генетически модифицированную для экспрессии рекомбинантного рецептора, например, CAR, нацеленного на другой эпитоп и/или антиген, например, другой антиген, связанный с заболеванием или состоянием. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой клетку, генетически модифицированную для экспрессии рекомбинантного рецептора, например, CAR, нацеленного на второй или дополнительный антиген, экспрессируемый на клетках множественной миеломы, например, CD38, CD138, CS-1, BAFF-R, TACI и/или FcRH5.

[0519] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой иммуномодулирующее средство. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает использование иммуномодулирующего средства, которое стимулирует, усиливает и/или иным образом повышает противоопухолевый иммунный ответ, например, противоопухолевый иммунный ответ вследствие введенных генетически модифицированных клеток, например, путем ингибирования передачи иммуносупрессорного сигнала или усиления передачи иммуностимулирующего сигнала. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой пептид, белок или представляет собой малую молекулу. В некоторых вариантах осуществления белок может представлять собой слитый белок или рекомбинантный белок. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство связывает иммунологическую мишень, такую как клеточный поверхностный рецептор, экспрессируемый на иммунных клетках, таких как Т-клетки, В-клетки или антигенпредставляющие клетки. Например, в некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело, или антигенсвязывающий фрагмент антитела, слитый белок, малую молекулу или полипептид. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные рецепторы, клетки и/или композиции вводят в сочетании с дополнительным средством, которое представляет собой антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, например, моноклональное антитело.

[0520] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство блокирует, ингибирует или противодействует компоненту пути иммунных контрольных точек. Иммунная система имеет множество ингибирующих путей, которые вовлечены в поддержание собственной толерантности и в модуляцию иммунных ответов. Опухоли могут использовать некоторые пути иммунных контрольных точек в качестве основного

механизма иммунной устойчивости, в частности против Т-клеток, специфических для опухолевых антигенов (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264), например, генетически модифицированных клеток, таких как CAR-экспрессирующие клетки. Поскольку многие такие иммунные контрольные точки инициируются в результате взаимодействий лиганд-рецептор, их можно с легкостью блокировать антителами против лигандов и/или их рецепторов.

[0521] Таким образом, терапия при помощи антагонистических молекул, блокирующих пути иммунных контрольных точек, например, малых молекул, ингибиторов нуклеиновых кислот (например, РНКи) или молекул антитела, становится многообещающим видом иммунотерапии рака и других заболеваний. В отличие от большинства противораковых средств, ингибиторы контрольных точек не обязательно направлены непосредственно на клетки опухолей, но скорее направлены на рецепторы лимфоцитов или их лиганды, для усиления эндогенной противоопухолевой активности иммунной системы.

[0522] Используемый в настоящем документе термин «ингибитор иммунных контрольных точек» относится к молекулам, которые полностью или частично уменьшают, ингибируют, препятствуют или модулируют один или более белков контрольных точек. Белки контрольных точек регулируют активацию или функцию Т-клеток. Эти белки ответственны за костимулирующие или ингибирующие взаимодействия при Т-клеточных ответах. Белки иммунных контрольных точек регулируют и поддерживают собственную толерантность, а также продолжительность и широту физиологических иммунных ответов. В некоторых вариантах осуществления субъекту можно вводить дополнительное средство, которое может усиливать или стимулировать иммунный ответ, например иммунный ответ, вызываемый ВСМА-связывающими рекомбинантными рецепторами, клетками и/или композициями, предложенными в настоящем документе, против заболевания или состояния, например, рака, такое, как любое из описанных в настоящем документе.

[0523] Ингибиторы иммунных контрольных точек включают любое средство, которое блокирует или ингибирует статистически значимым образом ингибирующие пути иммунной системы. Такие ингибиторы могут включать низкомолекулярные ингибиторы или могут включать антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают и блокируют или ингибируют рецепторы, лиганды иммунных контрольных точек и/или взаимодействие рецептор-лиганд. В некоторых вариантах осуществления модуляция, усиление и/или стимуляция конкретных рецепторов может преодолевать активность путей иммунных контрольных точек. Иллюстративные молекулы иммунных контрольных точек, которые могут служить мишенями для блокирования, ингибирования, модуляции, усиления и/или стимуляции, включают, но без ограничения, PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274, B7-H1), PDL2 (CD273, B7-DC), CTLA-4, LAG-3 (CD223), TIM-3, 4-1BB (CD137), 4-1BBL (CD137L), GITR (TNFRSF18, AITR), CD40, OX40 (CD134, TNFRSF4), CXCR2, опухоль-ассоциированные антигены (ТАА), B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, B7H3, B7H4, VISTA, KIR, 2B4 (принадлежит к семейству CD2 молекул и экспрессируется на всех NK,

$\gamma\delta$  и CD8<sup>+</sup> ( $\alpha\beta$ ) Т-клетках памяти), CD160 (также называемый BY55), CGEN-15049, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 или CD270), KIR, A2aR, MHC класса I, MHC класса II, GAL9, аденозин и рецептор трансформирующего фактора роста (TGFR; например, TGFR-бета). Ингибиторы иммунных контрольных точек включают антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, или другие связывающие белки, которые связывают и блокируют или ингибируют и/или усиливают или стимулируют активность одной или более любых из указанных молекул.

[0524] Иллюстративные ингибиторы иммунных контрольных точек включают тремелиумаб (CTLA-4-блокирующее антитело, также известное как тицилиумаб, CP-675,206), анти-OX40, анти-PD-L1 моноклональное антитело (анти-B7-H1; MEDI4736), МК-3475 (блокатор PD-1), ниволумаб (анти-PD-1 антитело), CT-011 (анти-PD-1 антитело), BY55 моноклональное антитело, AMP224 (анти-PD-L1 антитело), BMS-936559 (анти-PD-L1 антитело), MPLDL3280A (анти-PD-L1 антитело), MSB0010718C (анти-PD-L1 антитело) и ипилиумаб (анти-CTLA-4 антитело, также известное как ервой<sup>®</sup>, MDX-010 и MDX-101). Иллюстративные иммуномодулирующие антитела включают, но без ограничения, даклизумаб (зенапакс), бевацизумаб (авастин<sup>®</sup>), базиликсимаб, ипилиумаб, ниволумаб, пембролизумаб, MPDL3280A, пидилизумаб (CT-011), МК-3475, BMS-936559, MPDL3280A (атезолизумаб), тремелиумаб, IMP321, BMS-986016, LAG525, урелумаб, PF-05082566, TRX518, МК-4166, дацетузумаб (SGN-40), лукатумумаб (HCD122), SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, MSB0010718C (авелумаб), MEDI4736, PDR001, rHlgM12B7, улокуплумаб, BKT140, варлилумаб (CDX-1127), ARGX-110, MGA271, лирилумаб (BMS-986015, IPH2101), IPH2201, ARGX-115, эмактузумаб, CC-90002 и MNRP1685A, или их связывающий фрагмент антитела. Другие иллюстративные иммуномодуляторы включают, например, афутузумаб (доступный от Roche<sup>®</sup>); пег-филграстим (неуласта<sup>®</sup>); леналидомид (CC-5013, ревлимид<sup>®</sup>); талидомид (таломид<sup>®</sup>), актимид (CC4047) и IRX-2 (смесь человеческих цитокинов, включая интерлейкин 1, интерлейкин 2 и интерферон гамма, CAS 951209-71-5, доступная от IRX Therapeutics).

[0525] Белок программируемой гибели клеток 1 (PD-1) представляет собой белок иммунных контрольных точек, экспрессируемый в В-клетках, НК-клетках и Т-клетках (Shinohara *et al.*, 1995, *Genomics* 23:704-6; Blank *et al.*, 2007, *Cancer Immunol Immunother* 56:739-45; Finger *et al.*, 1997, *Gene* 197:177-87; Pardoll (2012) *Nature Reviews Cancer* 12:252-264). Основная роль PD-1 заключается в ограничении активности Т-клеток в периферических тканях в процессе воспаления в ответ на инфекцию, а также в ограничении аутоиммунных реакций. Экспрессия PD-1 индуцируется в активированных Т-клетках, и связывание PD-1 с одним из его эндогенных лигандов приводит к ингибированию Т-клеточной активации за счет ингибирования стимулирующих киназ. PD-1 также ингибирует «стоп-сигнал» TCR. PD-1 экспрессируется в высокой степени на клетках Treg и может приводить к усилению их пролиферации в присутствии лиганда (Pardoll (2012) *Nature Reviews Cancer* 12:252-264). Анти-PD-1 антитела были использованы для лечения

меланомы, немелкоклеточного рака легкого, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, трижды негативного рака молочной железы, лейкоза, лимфомы и почечно-клеточного рака (Topalian *et al.*, 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Lipson *et al.*, 2013, Clin Cancer Res 19:462-8; Berger *et al.*, 2008, Clin Cancer Res 14:3044-51; Gildener-Leapman *et al.*, 2013, Oral Oncol 49:1089-96; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85). Иллюстративные анти-PD-1 антитела включают ниволумаб (опдиво от BMS), пембролизумаб (кейтруда от Merck), пидилизумаб (CT-011 от Cure Tech), ламбролизумаб (МК-3475 от Merck) и AMP-224 (Merck), ниволумаб (также называемый опдиво, BMS-936558 или MDX1106; Bristol-Myers Squibb), полностью человеческое IgG4 моноклональное антитело, специфически блокирующее PD-1. Ниволумаб (клон 5C4) и другие человеческие моноклональные антитела, специфически связывающие PD-1, описаны в US 8008449 и WO2006/121168. Пидилизумаб (CT-011; Cure Tech) представляет собой гуманизированное IgG1k моноклональное антитело, связывающее PD-1. Пидилизумаб и другие гуманизированные анти-PD-1 моноклональные антитела описаны в WO2009/101611. Пембролизумаб (ранее известное как ламбролизумаб, и также называемое кейтруда, МК03475; Merck) представляет собой гуманизированное IgG4 моноклональное антитело, связывающее PD-1. Пембролизумаб и другие гуманизированные анти-PD-1 антитела описаны в US 8354509 и WO2009/114335. Другие анти-PD-1 антитела включают AMP 514 (Amplimmune), в числе прочих, например, анти-PD-1 антитела, описанные в US 8609089, US 2010028330, US 20120114649 и/или US 20150210769. AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; например, описанный в WO2010/027827 и WO2011/066342), представляет собой слитый растворимый рецептор PD-L2 Fc, блокирующий взаимодействие между PD-1 и B7-H1.

[0526] PD-L1 (также известный как CD274 и B7-H1) и PD-L2 (также известный как CD273 и B7-DC) представляют собой лиганды PD-1, находящиеся на активированных Т-клетках, В-клетках, миелоидных клетках, макрофагах и опухолевых клетках некоторых видов. Противоопухолевая терапия сконцентрирована на анти-PD-L1 антителах. Комплекс PD-1 и PD-L1 ингибирует пролиферацию CD8<sup>+</sup> Т-клеток и приводит к снижению иммунного ответа (Topalian *et al.*, 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Brahmer *et al.*, 2012, N Eng J Med 366:2455-65). Анти-PD-L1 антитела были использованы для лечения немелкоклеточного рака легкого, меланомы, колоректального рака, почечно-клеточного рака, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака молочной железы и гематологических злокачественных новообразований (Brahmer *et al.*, 2012, N Eng J Med 366:2455-65; Ott *et al.*, 2013, Clin Cancer Res 19:5300-9; Radvanyi *et al.*, 2013, Clin Cancer Res 19:5541; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85; Berger *et al.*, 2008, Clin Cancer Res 14:13044-51). Иллюстративные анти-PD-L1 антитела включают MDX-1105 (Medarex), MEDI4736 (Medimmune) MPDL3280A (Genentech), BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) и MSB0010718C. MEDI4736 (Medimmune) представляет собой человеческое моноклональное антитело, связывающее PD-L1 и ингибирующее взаимодействие лиганда с PD-1. MDPL3280A (Genentech/Roche) представляет собой человеческое Fc-оптимизированное

IgG1 моноклональное антитело, связывающее PD-L1. MDPL3280A и другие человеческие моноклональные антитела к PD-L1 описаны в патенте США № 7943743 и публикации патента США № 20120039906. Другие анти-PD-L1 связывающие вещества включают YW243.55.S70 (смотри WO2010/077634) и MDX-1105 (другое название BMS-936559, и, например, анти-PD-L1 связывающие вещества, описанные в WO2007/005874).

[0527] Ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами антиген (CTLA-4), также известный как CD152, представляет собой коингибирующую молекулу, регулирующую активацию Т-клеток. CTLA-4 является представителем суперсемейства иммуноглобулинов, который экспрессируется исключительно на Т-клетках. CTLA-4 ингибирует активацию Т-клеток и, как сообщают, ингибирует активность хелперных Т-клеток и усиливает иммуносупрессорную активность регуляторных Т-клеток. Хотя точный механизм действия CTLA-4 пока не изучен, было высказано предположение, что он ингибирует активацию Т-клеток, вытесняя CD28 из связывания с CD80 и CD86, а также активно доставляя ингибирующие сигналы в Т-клетки (Pardoll (2012) *Nature Reviews Cancer* 12:252-264). Анти-CTLA-4 антитела были использованы в клинических испытаниях для лечения меланомы, рака предстательной железы, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого (Robert & Ghiringhelli, 2009, *Oncologist* 14:848-61; Ott *et al.*, 2013, *Clin Cancer Res* 19:5300; Weber, 2007, *Oncologist* 12:864-72; Wada *et al.*, 2013, *J Transl Med* 11:89). Существенным признаком анти-CTLA-4 является кинетика противоопухолевого эффекта, с лаг-периодом вплоть до 6 месяцев после начального лечения, необходимым для физиологического ответа. В некоторых случаях опухоли могут фактически увеличиваться в размерах после начала лечения, до того, как начнется уменьшение размеров (Pardoll (2012) *Nature Reviews Cancer* 12:252-264). Иллюстративные анти-CTLA-4 антитела включают ипилимумаб (Bristol-Myers Squibb) и тремелимуаб (Pfizer). Ипилимумаб недавно получил одобрение FDA для лечения метастатической меланомы (Wada *et al.*, 2013, *J Transl Med* 11:89).

[0528] Белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3), также известный как CD223, представляет собой другой белок иммунных контрольных точек. Была установлена связь LAG-3 с ингибированием активности лимфоцитов и, в некоторых случаях, с индукцией анергии лимфоцитов. LAG-3 экспрессируется на разных клетках в иммунной системе, включая В-клетки, NK-клетки и дендритные клетки. LAG-3 является естественным лигандом рецептора МНС класса II, который в значительной степени экспрессируется на меланома-инфильтрирующих Т-клетках, включая те, которые обладают сильной иммуносупрессорной активностью. Иллюстративные анти-LAG-3 антитела включают BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), которое представляет собой моноклональное антитело, нацеленное на LAG-3. IMP701 (Immutep) представляет собой антитело-антагонист LAG-3, и IMP731 (Immutep и GlaxoSmithKline) представляет собой истощающее LAG-3 антитело. Другие ингибиторы LAG-3 включают IMP321 (Immutep), представляющий собой рекомбинантный слитый белок из растворимой части LAG-3 и Ig, который связывает молекулы МНС класса II и активирует антигенпредставляющие клетки (APC). Другие

антитела описаны, например, в WO2010/019570 и US 2015/0259420.

[0529] Т-клеточный иммуноглобулиновый домен и домен-3 муцина (TIM-3), исходно обнаруженные на Th1 клетках, как показано, являются отрицательными регуляторами иммунного ответа. Блокирование TIM-3 стимулирует опосредованный Т-клетками противоопухолевый иммунитет и проявляет противоопухолевую активность в целом ряде мышинных моделей опухолей. Сочетание блокирования TIM-3 с другими иммунотерапевтическими средствами, такими как TSR-042, анти-CD137 антитела и другие, может оказывать аддитивное или синергетическое действие в усилении противоопухолевых эффектов. Была показана связь экспрессии TIM-3 с целым рядом разных опухолей, включая меланому, NSCLC и рак почки, и, кроме того, показано, что экспрессия внутриопухолевого TIM-3 коррелирует с плохим прогнозом при самых разных видах опухолей, включая NSCLC, рак шейки матки и рак желудка. Блокирование TIM-3 также представляет интерес для стимуляции повышенного иммунитета к целому ряду хронических вирусных заболеваний. Также показано, что TIM-3 взаимодействует с рядом лигандов, включая галектин-9, фосфатидилсерин и HMGB1, хотя в настоящее время неясно, который из них, если вообще какой-нибудь из них, имеет отношение к регуляции противоопухолевых ответов. В некоторых вариантах осуществления антитела, фрагменты антител, малые молекулы или пептидные ингибиторы, нацеленные на TIM-3, могут связывать IgV домен TIM-3, ингибируя взаимодействие с его лигандами. Иллюстративные антитела и пептиды, ингибирующие TIM-3, описаны в US 2015/0218274, WO2013/006490 и US 2010/0247521. Другие анти-TIM-3 антитела включают гуманизированные варианты RMT3-23 (Ngiow *et al.*, 2011, *Cancer Res*, 71:3540-3551) и клон 8B.2C12 (Monney *et al.*, 2002, *Nature*, 415:536-541). Биспецифические антитела, ингибирующие TIM-3 и PD-1, описаны в US 2013/0156774.

[0530] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор CEACAM (например, ингибитор CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5). В некоторых вариантах осуществления ингибитор CEACAM представляет собой молекулу анти-CEACAM антитела. Иллюстративные анти-CEACAM-1 антитела описаны в WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 и WO 2014/022332, например, моноклональное антитело 34B1, 26H7 и 5F4; или его рекомбинантная форма, описанная, например, в US 2004/0047858, US 7132255 и WO 99/052552. В некоторых вариантах осуществления анти-CEACAM антитело связывает CEACAM-5, как описано, например, в Zheng *et al.* *PLoS One.* (2011) 6(6): e21146), или перекрестно реагирует с CEACAM-1 и CEACAM-5, как описано, например, в WO 2013/054331 и US 2014/0271618.

[0531] 4-1BB, также известный как CD137, представляет собой трансмембранный гликопротеин, принадлежащий к суперсемейству TNFR. Рецепторы 4-1BB присутствуют на активированных Т-клетках и В-клетках, а также моноцитах. Иллюстративным анти-4-1BB антителом является урелумаб (BMS-663513), который обладает потенциальной иммуностимулирующей и антинеопластической активностью.

[0532] Представитель 4 суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли

(TNFRSF4), также известный как OX40 и CD134, является другим представителем суперсемейства TNFR. OX40 конститутивно не экспрессируется на покоящихся наивных Т-клетках и действует в качестве вторичной костимулирующей молекулы иммунных контрольных точек. Иллюстративными анти-OX40 антителами являются MEDI6469 и MOXR0916 (RG7888, Genentech).

[0533] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает молекулу, которая уменьшает популяцию регуляторных Т-клеток (Treg). Способы, приводящие к уменьшению числа (например, истощению) клеток Treg, известны в данной области и включают, например, истощение CD25, введение циклофосфида и модуляцию функции гена, относящегося к семейству глюкокортикоид-индуцируемых TNFR (GITR). GITR является представителем суперсемейства TNFR, экспрессия которого повышена на активированных Т-клетках, что усиливает иммунную систему. Уменьшение количества клеток Treg у субъекта перед аферезом или перед введением генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, может приводить к уменьшению количества нежелательных иммунных клеток (например, Treg) в микроокружении опухоли и уменьшению риска субъекта испытать рецидив. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает молекулу, нацеленную на GITR и/или модулирующую функции GITR, такую как агонист GITR и/или анти-GITR антитело, которое приводит к истощению Т-клеток (Treg). В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает циклофосфамид. В некоторых вариантах осуществления GITR-связывающую молекулу и/или молекулу, модулирующую функцию GITR (например, агонист GITR и/или анти-GITR антитела, истощающие Treg), вводят до введения генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления агонист GITR можно вводить до афереза клеток. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид вводят субъекту до введения (например, инфузии или повторной инфузии) генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, или до афереза клеток. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид и анти-GITR антитело вводят субъекту до введения (инфузии или повторной инфузии) генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, или до афереза клеток.

[0534] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой агонист GITR. Иллюстративные агонисты GITR включают, например, слитые белки GITR и анти-GITR антитела (например, двухвалентные анти-GITR антитела), такие как, например, слитый белок GITR, описанный в патенте США № 6111090, Европейском патенте № 090505В 1, патенте США № 8586023, РСТ публикациях №№ WO 2010/003118 и 2011/090754, или анти-GITR антитело, описанное, например, в патенте США № 7025962, Европейском патенте № 1947183В 1, патенте США № 7812135, патенте США № 8388967, патенте США № 8591886, Европейском патенте № EP 1866339, РСТ публикации № WO 2011/028683, РСТ публикации № WO 2013/039954, РСТ публикации №

WO2005/007190, PCT публикации № WO 2007/133822, PCT публикации № WO2005/055808, PCT публикации № WO 99/40196, PCT публикации № WO 2001/03720, PCT публикации № WO99/20758, PCT публикации № WO2006/083289, PCT публикации № WO 2005/115451, патенте США № 7618632 и PCT публикации № WO 2011/051726. Иллюстративным анти-GITR антителом является TRX518.

[0535] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство усиливает инфильтрацию опухоли или перемещение введенных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления дополнительное средство стимулирует CD40, например, CD40L, например, рекомбинантный человеческий CD40L. Кластер дифференцировки 40 (CD40) также является представителем суперсемейства TNFR. CD40 представляет собой костимулирующий белок, присутствующий на антигенпредставляющих клетках, и опосредует самые разные иммунные и воспалительные ответы. CD40 также экспрессируется на клетках некоторых злокачественных новообразований, пролиферацию которых он стимулирует. Иллюстративными анти-CD40 антителами являются дацетумаб (SGN-40), лукатумумаб (Novartis, антагонист), SEA-CD40 (Seattle Genetics) и CP-870.893. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, усиливающее инфильтрацию опухоли, включает ингибитор тирозинкиназы сунитиниб, гепараназу и/или хемокиновые рецепторы, такие как CCR2, CCR4 и CCR7.

[0536] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает лекарственные средства на основе талидомида или его аналогов и/или его производных, например, леналидомид, помалидомид или апремиласт. Смотри, например, Bertilaccio *et al.*, Blood (2013) 122:4171, Otahal *et al.*, Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940; Fecteau *et al.*, Blood (2014) 124(10):1637-1644 и Kuramitsu *et al.*, Cancer Gene Therapy (2015) 22:487-495). Леналидомид ((RS)-3-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидро-2H-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-дион; также известный как ревлимид) представляет собой синтетическое производное талидомида и имеет множество иммуномодулирующих эффектов, включая обеспечение образования иммунных синапсов между Т-клетками и антигенпредставляющими клетками (АПК). Например, в некоторых случаях леналидомид модулирует Т-клеточные ответы и приводит к повышенному продуцированию интерлейкина (IL)-2 в CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетках, индуцирует смещение Т-хелперных (Th) ответов от Th2 к Th1, ингибирует размножение подмножества регуляторных Т-клеток (Treg) и улучшает функционирование иммунных синапсов при фолликулярной лимфоме и хроническом лимфоцитарном лейкозе (CLL) (Otahal *et al.*, Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940). Леналидомид также имеет прямую туморицидную активность у пациентов с множественной миеломой (ММ) и непосредственно или опосредованно модулирует выживание опухолевых клеток CLL за счет влияния на поддерживающие клетки, такие как поддерживающие клетки, находящиеся в микроокружении лимфоидных тканей. Леналидомид также усиливает пролиферацию Т-клеток и продуцирование интерферона- $\gamma$  в ответ на активацию Т-клеток за счет связывания CD3 или опосредуемую дендритными клетками активацию. Леналидомид также может

индуцировать экспрессию злокачественными В-клетками более высоких уровней иммуностимулирующих молекул, таких как CD80, CD86, HLA-DR, CD95 и CD40 (Fecteau *et al.*, Blood (2014) 124(10):1637-1644). В некоторых вариантах осуществления леналидомид вводят в дозе от примерно 1 мг до примерно 20 мг один раз в сутки, например, от примерно 1 мг до примерно 10 мг, от примерно 2,5 мг до примерно 7,5 мг, от примерно 5 мг до примерно 15 мг, например, примерно 5 мг, 10 мг, 15 мг или 20 мг один раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления леналидомид вводят в дозе от примерно 10 мкг/кг до 5 мг/кг, например, от примерно 100 мкг/кг до примерно 2 мг/кг, от примерно 200 мкг/кг до примерно 1 мг/кг, от примерно 400 мкг/кг до примерно 600 мкг/кг, например, примерно 500 мкг/кг. В некоторых вариантах осуществления ритуксимаб вводят в дозе примерно 350-550 мг/м<sup>2</sup> (например, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475 или 475-500 мг/м<sup>2</sup>), например, внутривенно. В некоторых вариантах осуществления леналидомид вводят в низкой дозе.

[0537] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой В-клеточный ингибитор. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой один или более В-клеточных ингибиторов, выбранных из ингибиторов CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 или ROR1, или их сочетание. В некоторых вариантах осуществления В-клеточный ингибитор представляет собой антитело (например, моно- или биспецифическое антитело) или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой генетически модифицированную клетку, экспрессирующую рекомбинантные рецепторы, нацеленные на В-клеточные мишени, например, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 или ROR1.

[0538] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор CD20, например, анти-CD20 антитело (например, анти-CD20 моно- или биспецифическое антитело) или его фрагмент. Иллюстративные анти-CD20 антитела включают, но не ограничиваются ими, ритуксимаб, офатумумаб, окрелизумаб (также известное как GA101 или RO5072759), велтузумаб, обинутузумаб, TRU-015 (Trubion Pharmaceuticals), окаратузумаб (также известное как AME-133v или окаратузумаб) и Pro131921 (Genentech). Смотри, например, Lim *et al.* Haematologica, (2010) 95(1):135-43. В некоторых вариантах осуществления анти-CD20 антитело представляет собой ритуксимаб. Ритуксимаб представляет собой химерное мышиное/человеческое моноклональное антитело IgG1 каппа, которое связывает CD20 и вызывает цитолиз CD20-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD20 представляет собой малую молекулу.

[0539] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор CD22, например, анти-CD22 антитело (например, анти-CD22 моно- или биспецифическое антитело) или его фрагмент. Иллюстративные анти-CD22 антитела включают эспратузумаб и RFB4. В некоторых вариантах осуществления

ингибитор CD22 представляет собой малую молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноспецифическое антитело, необязательно, конъюгированное со вторым средством, таким как химиотерапевтическое средство. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой конъюгат анти-CD22 моноклональное антитело-ММАЕ (например, DCDT2980S). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой scFv из анти-CD22 антитела, например, scFv из антитела RFB4. В некоторых вариантах осуществления scFv слит с целым, или с фрагментом экзотоксина *A Pseudomonas* (например, BL22). В некоторых вариантах осуществления scFv слит с целым, или с фрагментом (например, 38-кДа фрагментом) экзотоксина *A Pseudomonas* (например, моксетумомаб пасудотокс). В некоторых вариантах осуществления анти-CD22 антитело представляет собой анти-CD19/CD22 биспецифическое антитело, необязательно, конъюгированное с токсином. Например, в некоторых вариантах осуществления анти-CD22 антитело содержит биспецифический фрагмент анти-CD19/CD22 (например, два scFv лиганда, узнающие CD19 и CD22 человека), необязательно, связанный с целым, или с фрагментом дифтерийного токсина (DT), например, первыми 389 аминокислотами дифтерийного токсина (DT), DT 390, например, лиганд-направляемый токсин, такой как DT2219ARL). В некоторых вариантах осуществления биспецифический фрагмент (например, анти-CD 19/анти-CD22) связан с токсином, таким как дегликозилированная цепь рицина А (например, комботокс).

[0540] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой цитокин. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой цитокин или представляет собой средство, которое индуцирует повышенную экспрессию цитокина в микроокружении опухоли. Цитокины имеют важные функции, связанные с размножением, дифференциацией, выживанием и гомеостазом Т-клеток. Цитокины, которые могут быть введены субъекту, получающему ВСМА-связывающие рекомбинантные рецепторы, клетки и/или композиции, предложенные в настоящем документе, включают один или более из IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18 и IL-21. В некоторых вариантах осуществления вводимый цитокин представляет собой IL-7, IL-15 или IL-21, или их сочетание. В некоторых вариантах осуществления введение цитокина субъекту, который имеет недостаточный ответ на введение генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, повышает эффективность и/или противоопухолевую активность введенных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток.

[0541] «Цитокин» является общим термином для белков, высвобождаемых одной клеточной популяцией, которые действуют на другие клетки в качестве межклеточных посредников. Примерами таких цитокинов являются лимфокины, монокины и традиционные полипептидные гормоны. В число цитокинов входят гормоны роста, такие как человеческий гормон роста, N-метионил-человеческий гормон роста и бычий гормон роста; паратиреоидный гормон; тироксин; инсулин; проинсулин; релаксин; прорелаксин; гликопротеиновые гормоны, такие как фолликулостимулирующий гормон (FSH),

тиреотропный гормон (TSH) и лютеинизирующий гормон (LH); фактор роста гепатоцитов; фактор роста фибробластов; пролактин; плацентарный лактоген; фактор некроза опухоли-альфа и -бета; мюллерова ингибирующая субстанция; мышинный гонадотропин-ассоциированный пептид; ингибин; активин; фактор роста эндотелия сосудов; интегрин; тромбопоэтин (TPO); фактор роста нервов, такой как NGF-бета; фактор роста тромбоцитов; трансформирующие факторы роста (TGF), такие как TGF-альфа и TGF-бета; инсулиноподобные факторы роста I и II; эритропоэтин (EPO); остеиндуктивные факторы; интерфероны, такие как интерферон-альфа, бета и гамма; колониестимулирующие факторы (CSF), такие как макрофагальный CSF (M-CSF); гранулоцитарно-макрофагальный CSF (GM-CSF); и гранулоцитарный CSF (G-CSF); интерлейкины (IL), такие как IL-1, IL-1 альфа, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, фактор некроза опухоли, такой как TNF-альфа или TNF-бета; а также другие полипептидные факторы, включая LIF и кит-лиганд (KL). Используемый в настоящем документе термин «цитокин» охватывает белки из природных источников или из культуры рекомбинантных клеток, а также биологически активные эквиваленты цитокинов с природной последовательностью. Например, иммуномодулирующее средство представляет собой цитокин, и цитокин представляет собой IL-4, TNF- $\alpha$ , GM-CSF или IL-2.

[0542] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает полипептид интерлейкина-15 (IL-15), полипептид рецептора-альфа интерлейкина-15 (IL-15R $\alpha$ ), или их сочетание, например, hetIL-15 (Admune Therapeutics, LLC). hetIL-15 представляет собой гетеродимерный нековалентный комплекс из IL-15 и IL-15R $\alpha$ . hetIL-15 описан, например, в U.S. 8124084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413 и U.S. 2011/0081311. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство может включать один или более цитокинов. Например, интерлейкин может включать лейкоцитарный интерлейкин для инъекций (Multikine), который представляет собой сочетание природных цитокинов. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой агонист Toll-подобного рецептора (TLR), адъювант или цитокин.

[0543] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой средство, которое облегчает или нейтрализует токсичность одного или более видов, или побочные эффекты, связанные с клеточной терапией. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство выбирают из стероида (например, кортикостероида), ингибитора TNF $\alpha$  и ингибитора IL-6. Примером ингибитора TNF $\alpha$  является молекула анти-TNF $\alpha$  антитела, такого как инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб пегол и голимумаб. Другим примером ингибитора TNF $\alpha$  является слитый белок, такой как этанерцепт. Низкомолекулярные ингибиторы TNF $\alpha$  включают, но без ограничения, производные ксантина (например, пентоксифиллин) и бупропион. Примером ингибитора IL-6 является молекула анти-IL-6 антитела, такого как тоцилизумаб, сарилумаб, элсалимомаб, CNTO 328, ALD518/BMS-945429, CNTO 136, CPSI-2364, CDP6038, VX30, ARGX-109, FE301 и FM101. В некоторых вариантах осуществления молекула анти-IL-6

антитела представляет собой тоцилизумаб. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор IL-1R, такой как анакинра.

[0544] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой модулятор уровней аденозина и/или компонента пути аденозина. Аденозин может действовать в качестве иммуномодулирующего средства в организме. Например, аденозин и некоторые аналоги аденозина, которые не избирательно активируют подтипы рецепторов аденозина, приводят к уменьшению продуцирования нейтрофилами воспалительных окислительных продуктов (Cronstein *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 451:291, 1985; Roberts *et al.*, *Biochem. J.*, 227:669, 1985; Schrier *et al.*, *J. Immunol.* 137:3284, 1986; Cronstein *et al.*, *Clinical Immunol. Immunopath.* 42:76, 1987). В некоторых случаях концентрация внеклеточного аденозина или аналогов аденозина может возрастать в определенном окружении, например, микроокружении опухоли (ТМЕ). В некоторых случаях сигнализация аденозина или аналога аденозина зависит от гипоксии или факторов, вовлеченных в гипоксию или ее регуляцию, например, гипоксия-индуцируемого фактора (HIF). В некоторых вариантах осуществления усиление сигнализации аденозина может приводить к увеличению содержания внутриклеточного цАМФ и цАМФ-зависимой протеинкиназы, что приводит к ингибированию продуцирования провоспалительных цитокинов и может приводить к синтезу иммуносупрессорных молекул и развитию Treg (Sitkovsky *et al.*, *Cancer Immunol Res* (2014) 2(7):598-605). В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может уменьшать или обращать вспять иммуносупрессорные эффекты аденозина, аналогов аденозина и/или сигнализации аденозина. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может уменьшать или обращать вспять зависимую от гипоксии A2-аденосинергическую T-клеточную иммуносупрессию. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство выбирают из антагонистов рецепторов аденозина, разрушающих внеклеточный аденозин средств, ингибиторов образования аденозина за счет эктоферментов CD39/CD73 и ингибиторов сигнализации гипоксии-HIF-1 $\alpha$ . В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой антагонист или агонист рецептора аденозина.

[0545] Ингибирование или уменьшение количества внеклеточного аденозина или рецептора аденозина за счет ингибитора внеклеточного аденозина (такого как средство, которое предотвращает образование, разрушает, инактивирует и/или уменьшает количество внеклеточного аденозина) и/или ингибитора рецептора аденозина (такого как антагонист рецептора аденозина) может приводить к усилению иммунного ответа, такого как ответ, опосредуемый макрофагами, нейтрофилами, гранулоцитами, дендритными клетками, T- и/или B клетками. Кроме того, ингибиторы опосредуемого белком Gs цАМФ-зависимого внутриклеточного пути и ингибиторы иницируемых рецептором аденозина опосредуемых белком Gi внутриклеточных путей также могут приводить к увеличению острого и хронического воспаления.

[0546] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой антагонист или агонист рецептора аденозина, например, антагонист

или агонист одного или более из рецепторов аденозина A2a, A2b, A1 и A3. A1 и A3 ингибируют, а A2a и A2b стимулируют, соответственно, активность аденилатциклазы. Некоторые рецепторы аденозина, например, A2a, A2b и A3, могут подавлять или уменьшать иммунный ответ при воспалении. Таким образом, противодействие иммуносупрессорным рецепторам аденозина может повышать, стимулировать или усиливать иммунный ответ, например, иммунный ответ, связанный с введенными клетками, например, CAR-экспрессирующими Т-клетками. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство ингибирует продуцирование внеклеточного аденозина и иницируемую аденозином сигнализацию через рецепторы аденозина. Например, усиление иммунного ответа, локальное воспаление ткани и направленное разрушение ткани может быть усилено за счет ингибирования или уменьшения вызывающей продуцирование аденозина локальной гипоксии ткани; за счет разрушения (или инактивации) накопленного внеклеточного аденозина; за счет предотвращения или уменьшения экспрессии рецепторов аденозина на иммунных клетках; и/или за счет ингибирования/подавления сигнализации лигандов аденозина через рецепторы аденозина.

[0547] Антагонист представляет собой любое вещество, которое, как правило, отменяет действие другого вещества, например, средство, которое связывает клеточный рецептор без вызывания биологического ответа. В некоторых вариантах осуществления антагонист представляет собой химическое соединение, которое является антагонистом для рецептора аденозина, такого как рецептор A2a, A2b или A3. В некоторых вариантах осуществления антагонист представляет собой пептид или пептидомиметик, который связывает рецептор аденозина, но не инициирует зависимый от белка G<sub>i</sub> внутриклеточный путь. Иллюстративные антагонисты описаны в патентах США №№ 5565566; 5545627, 5981524; 5861405; 6066642; 6326390; 5670501; 6117998; 6232297; 5786360; 5424297; 6313131, 5504090 и 6322771.

[0548] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой антагонист рецептора A2 (A2R), такой как антагонист A2a. Иллюстративные антагонисты A2R включают KW6002 (истрадефиллин), SCH58261, кофеин, параксантин, 3,7-диметил-1-пропаргилксантин (DMPX), 8-(м-хлорстирил)кофеин (CSC), MSX-2, MSX-3, MSX-4, CGS-15943, ZM-241385, SCH-442416, преладенант, випаденант (ВП014), V2006, ST-1535, SYN-115, PSB-1115, ZM241365, FSPTP и нуклеиновую кислоту, ингибирующую экспрессию A2R, например, кшРНК или кшРНК, или любые антитела, или их антигенсвязывающие фрагменты, которые нацелены на A2R. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой антагонист A2R, описанный, например, в Ohta *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA (2006) 103:13132-13137; Jin *et al.*, Cancer Res. (2010) 70(6):2245-2255; Leone *et al.*, Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272; Beavis *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA (2013) 110:14711-14716; и Pinna, A., Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631; Sitkovsky *et al.*, Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605; US 8080554; US 8716301; US 20140056922; WO2008/147482; US 8883500; US 20140377240; WO02/055083; US 7141575;

US 7405219; US 8883500; US 8450329 и US 8987279).

[0549] В некоторых вариантах осуществления антагонист представляет собой антисмысловую молекулу, ингибирующую молекулу нуклеиновой кислоты (например, короткую ингибирующую РНК (киРНК)) или каталитическую молекулу нуклеиновой кислоты (например, рибозим), которая специфически связывает мРНК, кодирующую рецептор аденозина. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая молекула, ингибирующая молекула нуклеиновой кислоты или каталитическая молекула нуклеиновой кислоты связывает нуклеиновые кислоты, кодирующие A2a, A2b или A3. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая молекула, ингибирующая молекула нуклеиновой кислоты или каталитическая нуклеиновая кислота нацелена на биохимические пути, действующие после рецептора аденозина. Например, антисмысловая молекула или каталитическая нуклеиновая кислота может ингибировать фермент, вовлеченный в зависимый от белка Gs или белка Gi внутриклеточный путь. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает доминантно-негативную мутантную форму рецептора аденозина, такого как A2a, A2b или A3.

[0550] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, ингибирующее внеклеточный аденозин, включает средства, которые делают внеклеточный аденозин нефункциональным (или снижают такую функцию), например, вещество, которое модифицирует структуру аденозина, ингибируя способность аденозина передавать сигнал через рецепторы аденозина. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой фермент, создающий внеклеточный аденозин или разрушающий аденозин, его модифицированную форму или его модулятор. Например, в некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой фермент (например, аденозин дезаминазу) или другую каталитическую молекулу, которая избирательно связывает и разрушает аденозин, тем самым уничтожая или значительно уменьшая способность эндогенно образующегося аденозина передавать сигнал через рецепторы аденозина и прекращать воспаление.

[0551] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой аденозин дезаминазу (ADA) или ее модифицированную форму, например, рекомбинантную ADA и/или полиэтиленгликоль-модифицированную ADA (ADA-PEG), которая может ингибировать локальное накопление в тканях внеклеточного аденозина. ADA-PEG была использована в лечении пациентов с ADA SCID (Hershfield (1995) Hum Mutat. 5:107). В некоторых вариантах осуществления средство, ингибирующее внеклеточный аденозин, включает средства, которые предотвращают или уменьшают образование внеклеточного аденозина и/или предотвращают или уменьшают накопление внеклеточного аденозина, тем самым устраняя или в значительной степени уменьшая иммуносупрессорные эффекты аденозина. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство специфически ингибирует ферменты и белки, вовлеченные в регуляцию синтеза и/или секреции провоспалительных молекул, включая модуляторы ядерных факторов транскрипции. Подавление экспрессии рецептора аденозина или

экспрессии компонентов зависящего от белка Gs или белка Gi внутриклеточного пути, или зависящего от цАМФ внутриклеточного пути, может приводить к увеличению/усилению иммунного ответа.

[0552] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может быть нацелено на эктоферменты, которые создают или продуцируют внеклеточный аденозин. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство нацелено на эктоферменты CD39 и CD73, которые действуют в тандеме, создавая внеклеточный аденозин. CD39 (также называемый эктонуклеозидтрифосфат дифосфогидролаза) превращает внеклеточный АТФ (или АДФ) в 5'-АМФ. Затем CD73 (также называемый 5'-нуклеотидаза) превращает 5'-АМФ в аденозин. Активность CD39 является обратимой в результате действия НДФ-киназы и аденилаткиназы, в то время как активность CD73 является необратимой. CD39 и CD73 экспрессируются на стромальных клетках опухолей, включая эндотелиальные клетки и Treg, и также на многих раковых клетках. Например, экспрессия CD39 и CD73 на эндотелиальных клетках увеличивается в гипоксических условиях микроокружения опухоли. Гипоксия в опухоли может являться результатом недостаточного снабжения кровью и нарушенной сосудистой сети опухоли, приводящей к недостаточной доставке кислорода (Carroll and Ashcroft (2005), *Expert. Rev. Mol. Med.* 7(6):1-16). Гипоксия также ингибирует аденилаткиназу (АК), которая превращает аденозин в АМФ, что приводит к очень высокой концентрации внеклеточного аденозина. Таким образом, аденозин высвобождается в высоких концентрациях в ответ на гипоксию, которая является условием, часто имеющим место в микроокружении опухоли (ТМЕ), в солидных опухолях или вокруг них. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой одно или более из анти-CD39 антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, анти-CD73 антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, например, MEDI9447 или TY/23,  $\alpha$ - $\beta$ -метиленаденозиндифосфата (АДФ), ARL 67156, POM-3, IPH52 (смотри, например, Allard *et al.* *Clin Cancer Res* (2013) 19(20):5626-5635; Hausler *et al.*, *Am J Transl Res* (2014) 6(2):129-139; Zhang, B., *Cancer Res.* (2010) 70(16):6407-6411).

[0553] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор сигнализации индуцируемого гипоксией фактора 1-альфа (HIF-1 $\alpha$ ). Иллюстративные ингибиторы HIF-1 $\alpha$  включают дигоксин, акрифлавин, сиртуин-7 и ганетеспиб.

[0554] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает ингибитор протеинтирозинфосфатазы, например, ингибитор протеинтирозинфосфатазы, описанный в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеинтирозинфосфатазы представляет собой ингибитор SHP-1, например, ингибитор SHP-1, описанный в настоящем документе, такой как, например, стибоглюконат натрия. В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеинтирозинфосфатазы представляет собой ингибитор SHP-2, например, ингибитор SHP-2, описанный в настоящем документе.

[0555] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор киназы. Ингибиторы киназы, например, ингибитор киназы

CDK4, ингибитор киназы ВТК, ингибитор киназы MNK или ингибитор киназы DGK, могут регулировать конститутивно активные пути выживания, существующие в опухолевых клетках, и/или модулируют функцию иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК), например, ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PI3K). В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор CDK4, например, ингибитор CDK4/6. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор mTOR, такой как, например, рапамицин, аналог рапамицина, OSI-027. Ингибитор mTOR может представлять собой, например, ингибитор mTORC1 и/или ингибитор mTORC2, например, ингибитор mTORC1 и/или ингибитор mTORC2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор MNK или двойной ингибитор PI3K/mTOR. В некоторых вариантах осуществления другие иллюстративные ингибиторы киназы включают ингибитор АКТ перифозин, ингибитор mTOR темсиролимус, ингибиторы киназы Src дазатиниб и фостаматиниб, ингибиторы JAK2 пакритиниб и руксолитиниб, ингибиторы PKC $\beta$  энзастаурин и бриостатин, и ингибитор ААК алисертиб.

[0556] В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор ВТК, выбранный из ибрутиниба (PCI-32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774 и LFM-A13. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ВТК не уменьшает или не ингибирует киназную активность интерлейкин-2-индуцируемой киназы (ITK), и выбран из GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774 и LFM-A13.

[0557] В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор ВТК, например, ибрутиниб (1-[(3R)-3-[4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил]пиперидин-1-ил]проп-2-ен-1-он; также известный как PCI-32765). В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор ВТК, например, ибрутиниб (PCI-32765), и ибрутиниб вводят в дозе примерно 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 420 мг, 440 мг, 460 мг, 480 мг, 500 мг, 520 мг, 540 мг, 560 мг, 580 мг, 600 мг (например, 250 мг, 420 мг или 560 мг) ежедневно в течение некоторого периода времени, например, ежедневно в течение 21-дневного цикла или ежедневно в течение 28-дневного цикла. В некоторых вариантах осуществления ибрутиниб вводят на протяжении 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более циклов. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ВТК представляет собой ингибитор ВТК, описанный в международной заявке WO 2015/079417.

[0558] В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор PI3K. PI3K является центральным звеном в пути PI3K/Akt/mTOR, вовлеченном в регуляцию клеточного цикла и выживание лимфомы. Иллюстративный ингибитор PI3K включает иделалисиб (ингибитор PI3K $\delta$ ). В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой иделалисиб и ритуксимаб.

[0559] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор мишени рапамицина в клетках млекопитающих (mTOR). В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор mTOR, выбранный из темсиролимуса; ридафоролимуса (также известного как AP23573 и MK8669); эверолимуса (RAD001); рапамицина (AY22989); симапимода; AZD8055; PF04691502; SF1126 и XL765. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), такой как вемурафениб, дабрафениб и траметиниб.

[0560] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой средство, регулирующее про- или антиапоптотические белки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает ингибитор В-клеточной лимфомы 2 (BCL-2) (например, венетоклак, также называемый АВТ-199 или GDC-0199; или АВТ-737). Венетоклак представляет собой малую молекулу (4-(4-{[2-(4-хлорфенил)-4,4-диметил-1-циклогексен-1-ил]метил}-1-пиперазинил)-N-({3-нитро-4-[(тетрагидро-2H-пиран-4-илметил)амино]фенил}сульфонил)-2-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-илокси)бензамид), ингибирующую антиапоптотический белок BCL-2. Другие средства, модулирующие про- или антиапоптотический белок, включают ингибитор BCL-2 АВТ-737, навитоклак (АВТ-263); кинкадидин или ингибитор Mcl-1 ретиноид N-(4-гидроксифенил)ретинамид (4-HPR) для максимальной эффективности. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство обеспечивает проапоптотические стимулы, например, рекомбинантный связанный с фактором некроза опухоли апоптоз-индуцирующий лиганд (TRAIL), который может активировать путь апоптоза путем связывания с рецепторами смерти DR-4 и DR-5 TRAIL на поверхности опухолевых клеток, или анти-TRAIL-R2 агонистические антитела.

[0561] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает ингибитор индолеамин-2,3-диоксигеназы (IDO). IDO представляет собой фермент, который катализирует деградацию аминокислоты L-триптофана до кинуренина. Клетки многих видов рака избыточно экспрессируют IDO, например, рака предстательной железы, колоректального рака, рака поджелудочной железы, рака шейки матки, рака желудка, рака яичника, рака головы и рака легкого. Плазмоцитоидные дендритные клетки (pDC), макрофаги и дендритные клетки (DC) могут экспрессировать IDO. В некоторых аспектах уменьшение уровня L-триптофана (например, катализируемое IDO) приводит к иммуносупрессивной среде за счет индукции анергии Т-клеток и апоптоза. Таким образом, в некоторых аспектах ингибитор IDO может повышать эффективность ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций, описанных в настоящем документе, например, за счет уменьшения супрессии или гибели введенных CAR-экспрессирующих клеток. Иллюстративные ингибиторы IDO включают, но не ограничиваются ими, 1-метилтриптофан, индоксимод (New Link Genetics) (смотри, например, клинические испытания №№ NCT01191216; NCT01792050) и INCB024360 (Incyte Corp.) (смотри, например, клинические испытания №№ NCT01604889;

НСТ01685255).

[0562] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает цитотоксическое средство, например, CPX-351 (Celator Pharmaceuticals), цитарабин, даунорубин, возароксин (Sunesis Pharmaceuticals), сапацитабин (Cyclacel Pharmaceuticals) и даунорубин или митоксантрон. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает гипометилирующее средство, например, ингибитор ДНК-метилтрансферазы, например, азацитидин или децитабин.

[0563] В другом варианте осуществления дополнительная терапия представляет собой трансплантацию, например, аллогенную трансплантацию стволовых клеток.

[0564] В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лимфодеплеционную терапию. Лимфодеплеционная химиотерапия, как считают, улучшает приживаемость и активность экспрессирующих рекомбинантный рецептор клеток, таких как CAR Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеционная химиотерапия может стимулировать пролиферацию адаптивно перенесенных опухоль-специфических Т-клеток *in vivo* за счет гомеостатической пролиферации (Grossman 2004, Stachel 2004). В некоторых вариантах осуществления химиотерапия может приводить к уменьшению количества или элиминации CD4+CD25+ регуляторных Т-клеток, которые могут подавлять функцию нацеленных на опухоль адаптивно перенесенных Т-клеток (Turk 2004). В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеционная химиотерапия, проведенная до адаптивной Т-клеточной терапии, может приводить к увеличению экспрессии фактора 1 стромальных клеток (SDF-1) в костном мозге, увеличивая хоминг модифицированных Т-клеток к участку первичной опухоли за счет связывания SDF-1 с CXCR-4, экспрессированным на поверхности Т-клеток (Pinthus 2004). В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеционная химиотерапия также может приводить к уменьшению опухолевой нагрузки у субъекта и потенциальному уменьшению риска и степени тяжести CRS.

[0565] В некоторых вариантах осуществления лимфодеплецию проводят для субъекта, например, до введения генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеция включает введение одного или более из мелфалана, цитоксана, циклофосфида и/или флударабина. В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеционную химиотерапию проводят для субъекта до, одновременно или после введения (например инфузии) генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. В одном из примеров лимфодеплеционную химиотерапию применяют для субъекта до введения генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеционную химиотерапию применяют за 1-10 дней до введения генетически модифицированных клеток, например, за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 дней до начала введения генетически модифицированных клеток, или по меньшей мере за 2 дня, например, по меньшей мере 3, 4, 5, 6 или 7 дней, до начала введения генетически модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления

субъекту вводят прекондиционирующее средство не более чем за 7 дней, например, не более чем за 6, 5, 4, 3 или 2 дня до начала введения генетически модифицированных клеток. Количество дней после лимфодеплеционной химиотерапии, через которое вводят генетически модифицированные клетки, можно определять на основании клинических или логистических обстоятельств. В некоторых примерах корректировку дозы или другие изменения режима лимфодеплеционной химиотерапии можно проводить в зависимости от состояния здоровья субъекта, например, от функции органов субъекта, что определяет лечащий врач.

[0566] В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеционная химиотерапия включает введение лимфодеплеционного средства, такого как циклофосфамид, флударабин или их сочетание. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят циклофосфамид в дозе от или от примерно 20 мг/кг до 100 мг/кг массы тела субъекта, например, от или от примерно 40 мг/кг до 80 мг/кг. В некоторых аспектах субъекту вводят примерно 60 мг/кг циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид вводят один раз в сутки в течение одного или двух дней. В некоторых вариантах осуществления, когда лимфодеплеционное средство представляет собой циклофосфамид, субъекту вводят циклофосфамид в дозе от или от примерно,  $100 \text{ мг/м}^2$  до  $500 \text{ мг/м}^2$  площади поверхности тела субъекта, например, от или от примерно,  $200 \text{ мг/м}^2$  до  $400 \text{ мг/м}^2$ , или от  $250 \text{ мг/м}^2$  до  $350 \text{ мг/м}^2$ , включая все значения диапазонов. В некоторых случаях субъекту вводят примерно  $300 \text{ мг/м}^2$  циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид можно вводить в одной дозе или можно вводить в нескольких дозах, например, ежедневно, через день или раз в три дня. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид вводят ежедневно, например, в течение 1-5 дней, например, в течение 2-4 дней. В некоторых случаях субъекту вводят примерно  $300 \text{ мг/м}^2$  площади поверхности тела субъекта циклофосфамида ежедневно в течение 3 дней, до начала проведения клеточной терапии.

[0567] В некоторых вариантах осуществления, когда лимфодеплеционное средство представляет собой флударабин, субъекту вводят флударабин в дозе от или от примерно  $1 \text{ мг/м}^2$  до  $100 \text{ мг/м}^2$  площади поверхности тела субъекта, например, от или от примерно  $10 \text{ мг/м}^2$  до  $75 \text{ мг/м}^2$ , от  $15 \text{ мг/м}^2$  до  $50 \text{ мг/м}^2$ , от  $20 \text{ мг/м}^2$  до  $40 \text{ мг/м}^2$  или от  $24 \text{ мг/м}^2$  до  $35 \text{ мг/м}^2$ , включая все значения диапазонов. В некоторых случаях субъекту вводят примерно  $30 \text{ мг/м}^2$  флударабина. В некоторых вариантах осуществления флударабин можно вводить в одной дозе или можно вводить в нескольких дозах, например, ежедневно, через день или раз в три дня. В некоторых вариантах осуществления флударабин вводят ежедневно, например, в течение 1-5 дней, например, в течение 2-4 дней. В некоторых случаях субъекту вводят примерно  $30 \text{ мг/м}^2$  площади поверхности тела субъекта флударабина ежедневно в течение 3 дней, до начала проведения клеточной терапии.

[0568] В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеционное средство включает сочетание средств, например, сочетание циклофосфамида и флударабина. Таким образом, сочетание средств может включать циклофосфамид в любой дозе или с любой

схемой введения, например, как описано выше, и флударабин в любой дозе или с любой схемой введения, например, как описано выше. Например, в некоторых аспектах субъекту вводят флударабин в дозе или дозе примерно 30 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, ежедневно, и циклофосфамид в дозе или дозе примерно 300 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта ежедневно в течение 3 дней.

[0569] В некоторых вариантах осуществления противорвотное средство, за исключением дексаметазона или других стероидов, можно вводить субъекту до проведения лимфодеплеционной химиотерапии. В некоторых вариантах осуществления можно использовать месну для субъектов, имеющих в анамнезе геморрагический цистит.

[0570] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой онколитический вирус. В некоторых вариантах осуществления онколитические вирусы способны избирательно реплицироваться в раковых клетках и инициировать их гибель или замедлять их рост. В некоторых случаях онколитические вирусы не оказывают, или оказывают минимальное, влияние на не раковые клетки. Онколитические вирусы включают, но не ограничиваются ими, онколитический аденовирус, онколитические вирусы простого герпеса, онколитический ретровирус, онколитический парвовирус, онколитический вирус осповакцины, онколитический вирус синдбис, онколитический вирус гриппа или онколитический РНК-содержащий вирус (например, онколитический реовирус, онколитический вирус болезни Ньюкасла (NDV), онколитический вирус кори или онколитический вирус везикулярного стоматита (VSV)).

[0571] Другие иллюстративные виды комбинированной терапии, виды лечения и/или средства включают противоаллергические средства, противорвотные средства, анальгетики и вспомогательные терапевтические средства. В некоторых вариантах осуществления дополнительные средства включают цитопротективные средства, такие как нейропротекторы, поглотители свободных радикалов, кардиопротекторы, нейтрализаторы антрациклиновой экстравазации и питательные вещества.

[0572] В некоторых вариантах осуществления антитело, используемое в качестве дополнительного средства, конъюгировано или иным образом связано с терапевтическим средством, например, химиотерапевтическим средством (таким как цитоксан, флударабин, ингибитор гистондеацетилазы, деметилирующее средство, пептидная вакцина, противоопухолевый антибиотик, ингибитор тирозинкиназы, алкилирующее средство, ингибитор образования микротрубочек или антимитотическое средство), противоаллергическим средством, средством против тошноты (или противорвотным средством), обезболивающим или цитопротективным средством, описанными в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство.

[0573] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может модулировать, ингибировать или стимулировать конкретные факторы на уровне ДНК, РНК или белка, усиливая или стимулируя эффективность ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций, предложенных в настоящем документе. В некоторых

вариантах осуществления дополнительное средство может модулировать факторы на уровне нуклеиновой кислоты, например, ДНК или РНК, во введенных клетках, например, клетках, генетически модифицированных для экспрессии рекомбинантных рецепторов, например, CAR. В некоторых вариантах осуществления ингибирующая нуклеиновая кислота, например, ингибирующая нуклеиновая кислота, например, дцРНК, например, киРНК или кшРНК, или короткие полиндромные повторы, регулярно расположенные группами (CRISPR), активатор транскрипции, такой как эффекторная нуклеаза (TALEN) или эндонуклеаза «цинковые пальцы» (ZFN), может быть использована для ингибирования экспрессии ингибирующей молекулы в генетически модифицированной клетке, например, CAR-экспрессирующей клетке. В некоторых вариантах осуществления ингибитор представляет собой кшРНК. В некоторых вариантах осуществления ингибирующая молекула ингибируется в генетически модифицированной клетке, например, CAR-экспрессирующей клетке. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая молекулу дцРНК, ингибирующую экспрессию молекулы, которая модулирует или регулирует, например, ингибирует, T-клеточную функцию, функционально связана с промотором, например, полученным из H1 или U6 промотором, так что молекула дцРНК, которая ингибирует экспрессию ингибирующей молекулы, экспрессируется в генетически модифицированной клетке, например, CAR-экспрессирующей клетке. Смотри, например, Brummelkamp TR, *et al.* (2002) *Science* 296: 550- 553; Miyagishi M, *et al.* (2002) *Nat. Biotechnol.* 19: 497-500.

[0574] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство способно повреждать ген, кодирующий ингибирующую молекулу, такую как любой из ингибиторов иммунных контрольных точек, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления повреждение происходит путем делеции, например, делеции всего гена, экзона или области, и/или путем замены экзогенной последовательностью, и/или путем мутации, например, мутации со сдвигом рамки или миссенс-мутации, в гене, как правило, в экзоне гена. В некоторых вариантах осуществления повреждение приводит к преждевременному включению кодона остановки в ген, так что ингибирующая молекула не экспрессируется, или не экспрессируется в форме, которая может экспрессироваться на поверхности клетки и/или может опосредовать клеточную сигнализацию. Повреждение, как правило, происходит на уровне ДНК. Повреждение, как правило, является постоянным, необратимым или не преходящим.

[0575] В некоторых аспектах повреждение выполняют путем редактирования гена, например, с использованием ДНК-связывающего белка или ДНК-связывающей нуклеиновой кислоты, которая специфически связывает, или гибридизуется с геном в области, которая должна быть повреждена. В некоторых аспектах белок или нуклеиновая кислота связаны, или находятся в комплексе, с нуклеазой, например, в химерном или слитом белке. Например, в некоторых вариантах осуществления повреждение осуществляют с использованием слитого продукта, включающего нацеленный на ДНК белок и нуклеазу, такую как нуклеаза «цинковые пальцы» (ZFN) или TAL-эффекторная

нуклеаза (TALEN) или направляемая РНК нуклеаза, например, системы короткие полиндромные повторы, регулярно расположенные группами (CRISPR)-Cas, такой как система CRISPR-Cas9, специфическая для повреждаемого гена. В некоторых вариантах осуществления способы получения или создания генетически модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, включают введение в популяцию клеток молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих генетически модифицированный антигенный рецептор (например, CAR), и молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих средство, нацеленное на ингибирующую молекулу, такое как редактирующая ген нуклеаза, например, слитый продукт нацеленного на ДНК белка и нуклеазы, такой как ZFN или TALEN, или направленная на РНК нуклеаза, например, система CRISPR-Cas9, специфическая для ингибирующей молекулы.

[0576] Любое из дополнительных средств, описанных в настоящем документе, можно изготавливать и вводить в качестве комбинированной терапии с ВСМА-связывающим рекомбинантным рецептором (например, химерным антигенным рецептором) и/или генетически модифицированными клетками, экспрессирующими указанные молекулы (например, рекомбинантный рецептор), описанные в настоящем документе, например, в фармацевтических композициях, содержащих одно или более средств для комбинированной терапии и фармацевтически приемлемый носитель, например, описанный в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления ВСМА-связывающий рекомбинантный рецептор (например, химерный антигенный рецептор), генетически модифицированные клетки, экспрессирующие указанные молекулы (например, рекомбинантный рецептор), множество генетически модифицированных клеток, экспрессирующих указанные молекулы (например, рекомбинантный рецептор), можно вводить одновременно, параллельно или последовательно, в любом порядке, с дополнительными средствами, видами терапии или лечения, при этом такое введение обеспечивает создание терапевтически эффективных уровней каждого из средств в организме субъекта. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство можно вводить совместно с ВСМА-связывающими рекомбинантными рецепторами, клетками и/или композициями, описанными в настоящем документе, например, в виде части одной и той же фармацевтической композиции или с использованием одного и того же способа доставки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство вводят одновременно с ВСМА-связывающими рекомбинантными рецепторами, клетками и/или композициями, описанными в настоящем документе, но в отдельных композициях. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой дополнительную генетически модифицированную клетку, например, клетку, генетически модифицированную для экспрессии другого рекомбинантного рецептора, и ее вводят в той же композиции или в отдельной композиции. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство инкубируют с генетически модифицированными клетками, например, CAR-экспрессирующими клетками, перед введением клеток.

[0577] В некоторых примерах одно или более дополнительных средств вводят после,

или до, введения ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций, описанных в настоящем документе, с определенными временными интервалами. В некоторых примерах интервал составляет 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 1 месяц, 2 месяца или 3 месяца. В некоторых примерах одно или более дополнительных средств вводят несколько раз, и/или ВСМА-связывающие рекомбинантные рецепторы, клетки и/или композиции, описанные в настоящем документе, вводят несколько раз. Например, в некоторых вариантах осуществления дополнительное средство вводят до введения ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций, описанных в настоящем документе, например, за две недели, 12 дней, 10 дней, 8 дней, одну неделю, 6 дней, 5 дней, 4 дня, 3 дня, 2 дня или 1 день до введения. Например, в некоторых вариантах осуществления дополнительное средство вводят после введения ВСМА-связывающих рекомбинантных рецепторов, клеток и/или композиций, описанных в настоящем документе, например, через две недели, 12 дней, 10 дней, 8 дней, одну неделю, 6 дней, 5 дней, 4 дня, 3 дня, 2 дня или 1 день после введения.

[0578] Доза дополнительного средства может представлять собой любое терапевтически эффективное количество, например, любое количество дозы, описанное в настоящем документе, и соответствующая доза дополнительного средства может зависеть от типа заболевания, которое предстоит лечить, типа, дозы и/или частоты введения вводимого рекомбинантного рецептора, клетки и/или композиции, степени тяжести и течения заболевания, от того, вводят ли рекомбинантный рецептор, клетку и/или композицию с профилактической или терапевтической целью, от предыдущей терапии, клинической истории субъекта и его ответа на рекомбинантный рецептор, клетку и/или композицию, а также от решения лечащего врача. Рекомбинантный рецептор, клетку и/или композицию, и/или дополнительное средство, и/или вид терапии, можно вводить пациенту один раз, неоднократно, или вводить на протяжении серии процедур.

## VI. ИЗДЕЛИЯ ИЛИ НАБОРЫ

[0579] Также предложены изделия и наборы, включающие предложенные рекомбинантные рецепторы (например, CAR), генетически модифицированные клетки и/или содержащие их композиции. Изделия могут включать контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку на, или в, контейнере. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы, пробирки, мешки для в/в инфузий и так далее. Контейнеры могут быть выполнены из различных материалов, таких как стекло или пластик. В некоторых вариантах осуществления контейнер имеет стерильный порт доступа. Иллюстративные контейнеры включают мешки для внутривенных растворов, флаконы, включая флаконы с пробками, прокалываемыми иглой для инъекций. Изделие или набор также может включать вкладыш в упаковку с информацией о том, что композиции могут быть использованы для лечения конкретного состояния, такого как состояние, описанное в настоящем документе (например, множественная миелома). Альтернативно или дополнительно, изделие или набор также может включать другой или такой же контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер. Он также может включать другие

материалы, такие как другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и/или шприцы.

[0580] Этикетка или вкладыш в упаковку могут содержать информацию о том, что композицию используют для лечения ВСМА-экспрессирующего или ВСМА-связанного заболевания, нарушения или состояния у индивидуума. Этикетка или вкладыш в упаковку, которые находятся на, или в, контейнере, могут содержать инструкции по восстановлению и/или использованию препарата. Этикетка или вкладыш в упаковку также могут содержать информацию о том, что препарат полезен, или предназначен, для подкожного, внутривенного или другого введения с целью лечения или предотвращения ВСМА-экспрессирующего или ВСМА-связанного заболевания, нарушения или состояния у индивидуума.

[0581] В некоторых вариантах осуществления контейнер содержит композицию, которая сама по себе, или в сочетании с другой композицией, эффективна для лечения, предотвращения и/или диагностирования состояния. Изделие или набор может включать (а) первый контейнер с композицией, содержащейся в нем (то есть, первым лекарственным средством), при этом композиция содержит антитело (например, анти-ВСМА антитело), или его антигенсвязывающий фрагмент, или рекомбинантный рецептор (например, CAR); и (b) второй контейнер с композицией, содержащейся в нем (то есть, вторым лекарственным средством), при этом композиция содержит дополнительное средство, такое как цитотоксическое или иное лекарственное средство, и при этом изделие или набор дополнительно включает инструкции на этикетке или вкладыше в упаковку по введению субъекту второго лекарственного средства в эффективном количестве.

## VII. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0582] Используемый в настоящем документе термин «соответствующая форма» антитела означает, что при сравнении свойства или активности двух антител, свойство сравнивают для одной и той же формы антител. Например, если указано, что антитело имеет большую активность в сравнении с активностью соответствующей формы первого антитела, это означает, что конкретная форма, например, scFv, данного антитела, имеет большую активность в сравнении с формой scFv первого антитела.

[0583] Используемый в настоящем документе термин «Fc-область» означает C-концевую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей мере часть константной области. Термин охватывает природные последовательности Fc-области и варианты Fc-области. В одном варианте осуществления Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG продолжается от Cys226 или от Pro230 до карбоксильного конца тяжелой цепи. Однако C-концевой остаток лизина (Lys447) Fc-области может присутствовать или отсутствовать. Если в настоящем документе не указано иначе, нумерация аминокислотных остатков в Fc-области или константной области соответствует системе нумерации EU, также называемой EU-индексом, которая описана в публикации Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

[0584] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» и «целое

антитело» в настоящем документе используют взаимозаменяемо для обозначения антитела, имеющего структуру, практически аналогичную структуре природного антитела, или имеющего тяжелые цепи, содержащие Fc-область, определение которой приведено в настоящем документе.

[0585] «Выделенное» антитело представляет собой антитело, которое было отделено от компонентов его естественного окружения. В некоторых вариантах осуществления антитело очищено до степени чистоты более 95% или 99% при определении, например, методом электрофореза (например, SDS-ПААГ, изоэлектрического фокусирования (IEF), капиллярного электрофореза) или хроматографии (например, ионообменной или обращенно-фазовой ВЭЖХ). Для обзора методов оценки чистоты антитела, смотри, например, Flatman *et al.*, J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007).

[0586] «Выделенная» нуклеиновая кислота означает молекулу нуклеиновой кислоты, которая была отделена от компонентов ее естественного окружения. Выделенная нуклеиновая кислота включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащуюся в клетках, которые обычно содержат молекулу нуклеиновой кислоты, однако молекула нуклеиновой кислоты присутствует вне хромосомы или в участке хромосомы, который отличается от ее естественной локализации в хромосоме.

[0587] «Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая анти-ВСМА антитело» означает одну или более молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих тяжелые и легкие цепи антитела (или его фрагментов), включая такую молекулу(ы) нуклеиновой кислоты в одном векторе или в отдельных векторах, и такую молекулу(ы) нуклеиновой кислоты, в одном или более участках клетки-хозяина.

[0588] Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются взаимозаменяемо и относятся к клеткам, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева включают «трансформанты» и «трансформированные клетки», которые включают исходную трансформированную клетку и полученное от нее потомство, независимо от количества пассажей. Потомство может быть не полностью идентично родительской клетке по составу нуклеиновых кислот, и может иметь мутации. Мутантное потомство, имеющее ту же функцию или биологическую активность, что и подвергнутая скринингу или отобранная исходная трансформированная клетка, входит в объем настоящего изобретения.

[0589] Термины «полипептид» и «белок» используются взаимозаменяемо и означают полимер из аминокислотных остатков, без ограничения по минимальной длине. Полипептиды, включая антитела и цепи антител, а также другие пептиды, например, линкеры и ВСМА-связывающие пептиды, могут содержать аминокислотные остатки, включая природные и/или неприродные аминокислотные остатки. Термины также охватывают модифицированные после экспрессии полипептиды, например, гликозилированные, сиалилированные, ацетилированные, фосфорилированные и тому подобные. В некоторых аспектах полипептиды могут иметь модификации относительно природной или естественной последовательности при условии, что белок сохраняет

нужную активность. Эти модификации могут быть намеренными, например, вследствие сайт-направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, вследствие мутаций в организме хозяев, продуцирующих белки, или ошибок вследствие ПЦР-амплификации.

[0590] В настоящем документе «процентную (%) идентичность аминокислотной последовательности», «процентную идентичность» и «идентичность последовательности» относительно аминокислотной последовательности (эталонной полипептидной последовательности) определяют как процентное содержание аминокислотных остатков в последовательности-кандидате (например, конкретном антителе или фрагменте), которые идентичны аминокислотным остаткам в эталонной полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и внесения пробелов, при необходимости, для достижения максимальной процентной идентичности последовательностей и без учета консервативных замен в качестве части идентичности последовательности. Выравнивание для целей определения процентной идентичности аминокислотной последовательности можно осуществлять различными способами, известными в данной области, например, с использованием общедоступных компьютерных программ, таких как программы BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области могут определять соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания на всем протяжении сравниваемых последовательностей.

[0591] Аминокислотная замена может включать замену одной аминокислоты в полипептиде другой аминокислотой. Аминокислотные замены можно вносить в связывающую молекулу, например, интересующее антитело, и проводить скрининг продуктов на наличие нужной активности, например, сохраненной/улучшенной антигенсвязывающей активности, или сниженной иммуногенности.

[0592] Аминокислоты, как правило, могут быть сгруппированы в соответствии со следующими общими свойствами боковых цепей:

- (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислые: Asp, Glu;
- (4) основные: His, Lys, Arg;
- (5) остатки, влияющие на ориентацию цепи: Gly, Pro;
- (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[0593] Не консервативные аминокислотные замены могут включать замену представителя одного из этих классов на представителя другого класса.

[0594] Используемый в настоящем документе термин «вектор» означает молекулу нуклеиновой кислоты, способную распространять другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Термин включает вектор в качестве структуры самореплицируемой нуклеиновой кислоты, а также вектор, встроенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны управлять экспрессией нуклеиновых кислот, с

которыми они функционально связаны. В настоящем документе такие векторы называют «экспрессионными векторами».

[0595] Термин «вкладыш в упаковку» используют для обозначения инструкций, обычно включенных в коммерческую упаковку терапевтических продуктов, которые включают информацию о показаниях, вариантах применения, дозировке, введении, комбинированной терапии, противопоказаниях и/или предостережениях, связанных с использованием таких терапевтических продуктов.

[0596] При использовании в настоящем документе форма единственного числа существительных включает соответствующую форму множественного числа, если из контекста явно не следует иное. Например, «один» означает «по меньшей мере один» или «один или более». Понятно, что аспекты, варианты осуществления и вариации, описанные в настоящем документе, включают «включающие», «состоящие из» и/или «состоящие в основном из» аспекты, варианты осуществления и вариации.

[0597] В тексте настоящей заявки различные аспекты заявленного объекта изобретения представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона использовано исключительно для удобства и краткости, и не должно восприниматься как негибкое ограничение объема заявленного объекта изобретения. Соответственно, описание диапазона следует понимать, как специально раскрывающее все возможные поддиапазоны, а также отдельные числовые значения в данном диапазоне. Например, если указан диапазон значений, понятно, что каждое промежуточное значение между верхним и нижним пределом данного диапазона, а также любое другое заявленное или промежуточное значение в данном указанном диапазоне, входит в объем заявленного объекта изобретения. Верхние и нижние пределы этих меньших по размеру диапазонов могут независимо быть включены в меньшие диапазоны, и также входят в объем заявленного объекта изобретения, с учетом любого специально исключенного предела в заявленном диапазоне. Если указанный диапазон включает одно или оба из этих пределов, диапазоны, исключаящие один или оба из этих включенных пределов, также включены в заявленный объект изобретения. Это правило применимо независимо от широты диапазона.

[0598] Используемый в настоящем документе термин «примерно» относится к обычному диапазону погрешности для соответствующего значения, хорошо известному специалистам в данной области. В настоящем документе использование термина «примерно» применительно к значению или параметру включает (и описывает) варианты осуществления, которые направлены на это значение или параметр как таковые. Например, описание, относящееся к «примерно X», включает описание «X».

[0599] В настоящем документе «композиция» означает любую смесь двух или более продуктов, веществ или соединений, включая клетки. Она может представлять собой раствор, суспензию, жидкость, порошок, пасту, водный, не водный состав или любое их сочетание.

[0600] В настоящем документе заявление, что клетка или популяция клеток является «положительной» по конкретному маркеру, означает поддающееся обнаружению наличие

на, или в, клетке конкретного маркера, как правило, поверхностного маркера. При ссылке на поверхностный маркер термин означает наличие экспрессии маркера на поверхности, что определяют методом проточной цитометрии, например, путем окрашивания антителом, которое специфически связывает маркер, и обнаружения указанного антитела, при этом окрашивание может быть обнаружено методом проточной цитометрии на уровне, существенно превышающем уровень окрашивания, определяемый при проведении такой же процедуры с изотипическим контролем при в остальном идентичных условиях, и/или на уровне, практически аналогичном уровню для клетки, которая, как известно, содержит данный маркер, и/или на уровне, существенно превышающем уровень для клетки, которая, как известно, не содержит данный маркер.

[0601] В настоящем документе заявление, что клетка или популяция клеток является «отрицательной» по конкретному маркеру, означает отсутствие значительного поддающегося обнаружению наличия на, или в, клетке конкретного маркера, как правило, поверхностного маркера. При ссылке на поверхностный маркер термин означает отсутствие экспрессии маркера на поверхности, что определяют методом проточной цитометрии, например, путем окрашивания антителом, которое специфически связывает маркер, и обнаружения указанного антитела, при этом окрашивание не может быть обнаружено методом проточной цитометрии на уровне, существенно превышающем уровень окрашивания, определяемый при проведении такой же процедуры с изотипическим контролем при в остальном идентичных условиях, и/или на уровне, значительно более низком, чем уровень для клетки, которая, как известно, содержит данный маркер, и/или на уровне, практически аналогичном уровню для клетки, которая, как известно, не содержит маркер.

[0602] Если нет иных указаний, все относящиеся к данной области термины, системы обозначений и другие технические и научные термины или терминология, используемые в настоящем документе, должны иметь то же значение, которое им обычно придают специалисты в области, к которой относится заявленный объект изобретения. В некоторых случаях термины с общепринятыми значениями определены в настоящем документе для ясности и/или для доступной ссылки, и включение таких определений в настоящий документ не обязательно должно означать их существенное отличие от общепринятых в данной области определений.

[0603] Все публикации, включая патентные документы, научные статьи и базы данных, упомянутые в настоящей спецификации, включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме и для всех целей в такой же степени, как если бы каждая отдельная публикация была индивидуально включена посредством ссылки. Если определение, приведенное в настоящем документе, отличается или иным образом не соответствует определению, приведенному в патентах, патентных заявках, опубликованных патентных заявках и других публикациях, включенных в настоящий документ посредством ссылки, определение, приведенное в настоящем документе, имеет преимущественную силу относительно определения в публикации, содержание которой

включено в настоящий документ посредством ссылки.

[0604] Заголовки разделов, используемые в настоящем документе, предназначены исключительно для организационных целей и не должны восприниматься как ограничивающие описанный объект изобретения.

#### VIII. ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0605] В число вариантов осуществления, предложенных в настоящем документе, входят следующие:

1. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген; (b) спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область, при этом после экспрессии полинуклеотида в клетке транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

2. Полинуклеотид по варианту осуществления 1, при этом спейсер получен из иммуноглобулина.

3. Полинуклеотид по варианту осуществления 1 или варианту осуществления 2, при этом спейсер содержит последовательность шарнирной области, области CH2 и CH3.

4. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-3, при этом закодированный спейсер представляет собой или содержит (i) последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (ii) функциональный вариант SEQ ID NO: 649, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 649; или (iii) непрерывный фрагмент из (i) или (ii) длиной по меньшей мере 125 аминокислот.

5. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-4, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая спейсер, содержит по меньшей мере один модифицированный сайт донора сплайсинга и/или сайт акцептора сплайсинга, при этом указанный модифицированный сайт донора сплайсинга и/или акцептора сплайсинга имеет одну или более нуклеотидных модификаций относительно эталонного сайта донора сплайсинга и/или эталонного сайта акцептора сплайсинга, содержащихся в последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 621.

6. Полинуклеотид по варианту осуществления 5, при этом одна или более нуклеотидных модификаций включают вставку, делецию, замену или их сочетание.

7. Полинуклеотид по варианту осуществления 5 или варианту осуществления 6, при этом эталонный сайт акцептора сплайсинга и/или эталонный сайт донора сплайсинга являются каноническими, неканоническими или скрытыми сайтами сплайсинга.

8. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 5-7, при этом: эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга имеет показатель прогнозирования сайта сплайсинга, составляющий по меньшей мере или примерно 0,4, 0,5, 0,6, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 0,99 или 1,0; и/или

эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга, согласно предсказанию, вовлечен(ы) в событие сплайсинга с вероятностью по меньшей мере 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100%.

9. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 5-8, при этом:

эталонный сайт донора сплайсинга содержит последовательность aatctaagtagcgac (SEQ ID NO: 705), tcaactggtacgtgg (SEQ ID NO: 706), acaattagtagcgac (SEQ ID NO: 707) и/или accacaggtgtatac (SEQ ID NO: 708); и/или

эталонный сайт акцептора сплайсинга содержит последовательность aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID NO: 742) и/или gggcaacgtgttctctgcatgcacgaagccctgc (SEQ ID NO: 743).

10. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 5-8, при этом:

эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга имеет показатель прогнозирования сайта сплайсинга, составляющий по меньшей мере или примерно 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 0,99 или 1,0; и/или

эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга, согласно предсказанию, вовлечен(ы) в событие сплайсинга с вероятностью по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100%.

11. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 5-8 и 10, при этом:

эталонный сайт донора сплайсинга содержит последовательность tcaactggtacgtgg (SEQ ID NO: 706); и/или

эталонный сайт акцептора сплайсинга содержит последовательность aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID NO: 742).

12. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 5-11, при этом по меньшей мере одна из одной или более нуклеотидных модификаций находится в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков от границы сайта сплайсинга эталонного сайта акцептора сплайсинга и/или эталонного сайта донора сплайсинга.

13. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 5-12, при этом одна или более нуклеотидных модификаций являются молчащими и/или приводят к вырожденному кодону в сравнении с SEQ ID NO: 621, и/или не изменяют аминокислотную последовательность закодированного спейсера.

14. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 5-9 и 12-13, при этом:

модифицированный сайт донора сплайсинга имеет последовательность agtctaaatacggac (SEQ ID NO: 661), tcaactggtatgtgg (SEQ ID NO: 662), accatctccaaggcc (SEQ ID NO: 663) и/или gccccaggtttacac (SEQ ID NO: 664); и/или

модифицированный сайт акцептора сплайсинга имеет последовательность cagtttcttctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa (SEQ ID NO: 672), gggcaacgtgttcagctgcagcgtatgcacgaggccctgc (SEQ ID NO: 673) и/или cgccttctctcttctcccgtctctctgttgcggacct (SEQ ID NO: 766).

15. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 5-14, при этом модифицированный сайт донора сплайсинга имеет последовательность tcaactggtatgtgg

(SEQ ID NO: 662) и/или модифицированный акцепторный сайт имеет последовательность cagtttcttcctgtatagtagactcacccgtggataaatcaa (SEQ ID NO: 672) и/или cgccttgctccttgctcccgtcctcctgttgccggacct (SEQ ID NO: 766).

16. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-15, при этом спейсер закодирован нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 622, или ее фрагментом.

17. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген; (b) спейсер, при этом кодирующая нуклеиновая кислота представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622, или кодирует аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

18. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген; (b) спейсер, при этом кодирующая нуклеиновая кислота состоит или состоит в основном из последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 622, или кодирует аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

19. Полинуклеотид по варианту осуществления 17 или варианту осуществления 18, при этом после экспрессии полинуклеотида в клетке транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

20. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-19, при этом после экспрессии в клетке транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет сниженную гетерогенность в сравнении с гетерогенностью мРНК, транскрибированной с эталонного полинуклеотида, кодирующего ту же аминокислотную последовательность, что и полинуклеотид, при этом эталонный полинуклеотид отличается присутствием одного или более сайтов донора сплайсинга и/или одного или более сайтов акцептора сплайсинга в нуклеиновой кислоте, кодирующей спейсер, и/или имеет одну или более нуклеотидных модификаций в сравнении с полинуклеотидом.

21. Полинуклеотид по варианту осуществления 20, при этом гетерогенность РНК снижена на более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более.

22. Полинуклеотид по варианту осуществления 20 или варианту осуществления 21, при этом транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с эталонного полинуклеотида имеет гетерогенность РНК более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более.

23. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-22, при этом гомогенность и/или гетерогенность РНК определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического

ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или жидкостной хроматографии.

24. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-23, который является кодон-оптимизированным.

25. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-24, при этом антиген ассоциирован с заболеванием или состоянием, или экспрессируется в клетках, окружающих лезию, связанную с заболеванием или состоянием.

26. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-25, при этом заболевание или состояние представляет собой рак.

27. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-26, при этом заболевание или состояние представляет собой миелому, лейкоз или лимфому.

28. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-27, при этом антиген представляет собой ROR1, антиген созревания В-клеток (BCMA), карбоангидразу 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (рецептор тирозинкиназы erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, мезотелин, CEA и поверхностный антиген вируса гепатита В, антифолатный рецептор, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, эпителиальный гликопротеин 2 (EPG-2), эпителиальный гликопротеин 40 (EPG-40), EPHa2, erb-B2, erb-B3, erb-B4, димеры erbB, EGFR vIII, фолат-связывающий белок (FBP), FCRL5, FCRH5, эмбриональный ацетилхолиновый рецептор, GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-альфа, IL-13R-альфа 2, рецептор домена киназной вставки (kdr), легкую цепь каппа, Lewis Y, L1-молекулу клеточной адгезии, (L1-CAM), меланома-ассоциированный антиген (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), сурвивин, TAG72, B7-H6, рецептор альфа 2 IL-13 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE A1, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, фолатный рецептор  $\alpha$ , CD44v6, CD44v7/8, интегрин avb6, 8H9, NCAM, рецепторы VEGF, 5T4, эмбриональный AchR, лиганды NKG2D, CD44v6, двойной антиген, раково-тестикулярный антиген, мезотелин, мышинный CMV, муцин 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, онкоэмбриональный антиген, ROR1, TAG72, VEGF-R2, карциноэмбриональный антиген (CEA), Her2/neu, рецептор эстрогена, рецептор прогестерона, эфрин B2, CD123, c-Met, GD-2, О-ацетилированный GD2 (OGD2), CE7, антиген опухоли Вильмса 1 (WT-1), циклин, циклин A2, CCL-1, CD138, специфический для патогена антиген.

29. Полинуклеотид по варианту осуществления 28, при этом антиген представляет собой антиген созревания В-клеток (BCMA).

30. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-29, при этом антигенсвязывающий домен представляет собой фрагмент антитела, содержащий переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL).

31. Полинуклеотид по варианту осуществления 30, при этом:

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH,

приведенной в любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или

область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849.

32. Полинуклеотид по варианту осуществления 30 или варианту осуществления 31, при этом:

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609 или 617; и/или

область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610 или 618.

33. Полинуклеотид по варианту осуществления 30 или варианту осуществления 31, при этом:

область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или

область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849.

34. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-33, при этом:

область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609 или 617; и/или

область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610 или 618.

35. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-34, при этом:

область VH представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295,

507, 532, 593, 596, 604, 611; и/или (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 594, 597, 605, 612; и (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595, 606, 613; и/или

область VL представляет собой или содержит (a) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589, 601, 607 или 614; (b) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590, 602, 608 или 615; и (c) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 или 603.

36. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-35, при этом:

область VH представляет собой или содержит (a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 141, 143, 144, 288, 289, 507, 593, 604, 611; и/или (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4, 5, 6, 145, 147, 148, 290, 291, 372, 513, 594, 605 или 612; и (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 149, 153, 154, 155, 156, 157, 292, 293, 376, 517, 595, 606 или 613; и/или

область VL представляет собой или содержит (a) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 174, 176, 177, 178, 302, 303, 380, 381, 382, 589, 601, 607 или 614; (b) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37, 38, 39, 41, 43, 44, 179, 181, 182, 183, 304, 305, 399, 400, 401, 402, 590, 602, 608 или 615; и (c) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47, 48, 49, 51, 52, 55, 56, 185, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 306, 307, 415, 417, 418, 421, 591 или 603.

37. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-36, при этом область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности



SEQ ID NO: 2, 5 и 378, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 2, 374 и 9, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 604, 605 и 606, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 288, 290 и 292, соответственно; или

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно.

38. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-37, при этом область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 2, 5 и 8, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 2, 5 и 9, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 141, 145 и 149, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 143, 147 и 153, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 144, 148 и 154, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 2, 5 и 156, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности  
SEQ ID NO: 2, 6 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности

SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 372 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 604, 605 и 606, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 290 и 292, соответственно; или

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно.

39. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-38, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832.

40. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-39, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609 или 617.

41. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-40, при этом: область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; или

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно.

42. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-41, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617.

43. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-42, при этом область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26, 37 и 47, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27, 38 и 48, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ



ID NO: 178, 183 и 194, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 30, 399 и 415, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 380, 400 и 416, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 33, 43 и 421, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 381, 401 и 417, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 382, 402 и 418, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 383, 403 и 419, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 384, 39 и 54, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 385, 180 и 58, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 175, 180 и 188, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 386, 404 и 420, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 387, 405 и 422, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 388, 406 и 423, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 388, 407 и 424, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 389, 408 и 425, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 390, 183 и 193, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 391, 409 и 426, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 392, 40 и 427, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 394, 39 и 429, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 395, 411 и 430, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 396, 412 и 431, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 396, 412 и 58, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 397, 413 и 432, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 398, 414 и 433, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 614, 615 и 603, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 589, 590 и 591, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 607, 608 и 591, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 302, 304 и 306, соответственно; или

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 303, 305 и 307, соответственно.

44. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-43, при этом область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 26, 37 и 47, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 27, 38 и 48, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 28, 39 и 49, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 30, 39 и 51, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 31, 41 и 52, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 33, 43 и 55, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 34, 44 и 56, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 174, 179 и 185, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 174, 179 и 189, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 176, 181 и 190, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 177, 182 и 191, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 174, 179 и 192, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 178, 183 и 193, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 178, 183 и 194, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 30, 399 и 415, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 380, 400 и 416, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 33, 43 и 421, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 381, 401 и 417, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 382, 402 и 418, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 614, 615 и 603, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 589, 590 и 591, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 607, 608 и 591, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 302, 304 и 306, соответственно; или

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 303, 305 и 307, соответственно.

45. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-44, при этом область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849.

46. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-45, при этом область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610 или 618.

47. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-46, при этом:

область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или

область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

48. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-47, при этом область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618.

49. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-48, при этом:

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 122, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 122, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 123, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 123, соответственно;









область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 519 и 557, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 519 и 557, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно; или

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно.

50. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-49, при этом:

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 120, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 121, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и



534, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 519 и 535, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 519 и 535, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 115 и 536, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 115 и 536, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 520 и 264, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 520 и 264, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 521 и 537, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 521 и 537, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 522 и 538, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 522 и 538, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно; или

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно.

51. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-50, при этом фрагмент представляет собой scFv.

52. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-51, при этом область

VH и область VL соединены гибким линкером.

53. Полинуклеотид по варианту осуществления 52, при этом scFv содержит линкер, содержащий аминокислотную последовательность GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 361).

54. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-53, при этом область VH является амино-концевой по отношению к области VL.

55. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-54, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 или 769-771, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 или 769-771.

56. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-55, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 или 585, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 или 585.

57. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-56, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит (a) нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 330-352, 647, 648, 716 или 718; (b) нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 330-352, 647, 648, 716 или 718; или (c) вырожденную последовательность из (a) или (b).

58. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-57, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит (a) нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 352, 647, 648, 716 или 718; (b) нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 352, 647, 648, 716 или 718; или (c) вырожденную последовательность из (a) или (b).

59. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-57, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, является кодон-оптимизированной.

60. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-57, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 440, 460, 715, 717 или 719.

61. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-60, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит нуклеотидную

последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 460.

62. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 30-53, при этом область VH является карбокси-концевой по отношению к области VL.

63. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 51-53 и 62, при этом scFv содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 328 или 586, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 328 или 586.

64. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-59, при этом внутриклеточная сигнальная область содержит активирующий цитоплазматический сигнальный домен.

65. Полинуклеотид по варианту осуществления 60, при этом активирующий цитоплазматический сигнальный домен способен индуцировать основной сигнал активации в Т-клетке, представляет собой компонент Т-клеточного рецептора (TCR) и/или содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM).

66. Полинуклеотид по варианту осуществления 64 или варианту осуществления 65, при этом активирующий цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент.

67. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 64-66, при этом активирующий цитоплазматический домен является человеческим или получен из человеческого белка.

68. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 64-67, при этом активирующий цитоплазматический домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628.

69. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 64-68, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая активирующий цитоплазматический домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 627, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность.

70. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 64-69, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая активирующий цитоплазматический сигнальный домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 652.

71. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 64-70, при этом внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующую сигнальную область.

72. Полинуклеотид по варианту осуществления 71, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной

костимулирующей молекулы или его сигнальный фрагмент.

73. Полинуклеотид по варианту осуществления 71 или варианту осуществления 72, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS, или его сигнальный фрагмент.

74. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 71-73, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB.

75. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 71-74, при этом костимулирующая сигнальная область является человеческой или получена из человеческого белка.

76. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 71-75, при этом костимулирующая сигнальная область представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 626, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 626.

77. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 71-76, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая костимулирующую область, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 625, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность.

78. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 71-77, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая костимулирующую сигнальную область, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 681.

79. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 71-78, при этом костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и внутриклеточной сигнальной областью.

80. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-79, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD4, CD28 или CD8.

81. Полинуклеотид по варианту осуществления 80, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD28.

82. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-81, при этом трансмембранный домен является человеческим или получен из человеческого белка.

83. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-82, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 624, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 624.

84. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-83, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая трансмембранный домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 623, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность.

85. Полинуклеотид по варианту осуществления 35а, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая трансмембранный домен, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 688.

86. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-85, при этом закодированный химерный антигенный рецептор содержит, от его N- к С-концу, в следующем порядке: антигенсвязывающий домен, спейсер, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен.

87. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-86, при этом полинуклеотид также кодирует укороченный рецептор.

88. Химерный антигенный рецептор, закодированный полинуклеотидом по любому из вариантов осуществления 1-87.

89. Химерный антигенный рецептор, содержащий: (а) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген созревания В-клеток (BCMA); (b) спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот; (с) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

90. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 89, при этом спейсер получен из иммуноглобулина.

91. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 89 или варианту осуществления 90, при этом спейсер содержит последовательность шарнирной области, области CH2 и CH3.

92. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 91, при этом одно или более из шарнира, CH2 и CH3 полностью или частично получены из IgG4 или IgG2, необязательно, человеческого IgG4 или человеческого IgG2.

93. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 90 или варианту осуществления 91, при этом шарнир, CH2 и CH3 получены из IgG4.

94. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 90 или варианту осуществления 91, при этом одно или более из шарнира, CH2 и CH3 являются химерными и содержат последовательность, полученную из IgG4 и IgG2.

95. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 94, при этом спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4, имеющий по меньшей мере одну аминокислотную замену в сравнении с IgG4, химерную область CH2 IgG2/4 и область CH3 IgG4 человека.

96. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 89-92 и 94-95, при этом спейсер представляет собой или содержит (i) последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (ii) функциональный вариант SEQ ID NO: 649, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 649; или (iii) непрерывный фрагмент из (i) или (ii) длиной по меньшей мере 125 аминокислот.

97. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 89-92 и 94-96, при этом закодированный спейсер представляет собой или содержит

последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649.

98. Химерный антигенный рецептор, содержащий: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген созревания В-клеток (BCMA); (b) спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

99. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 89-98, при этом антигенсвязывающий домен представляет собой фрагмент антитела, содержащий переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL).

100. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 99, при этом:

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609 или 617; и/или

область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849.

101. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 99 или варианту осуществления 100, при этом:

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609 или 617; и/или

область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610 или 618.

102. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 99 или варианту осуществления 100, при этом:

область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832; и/или

область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849.

103. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-

102, при этом:

область VH представляет собой или содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609 или 617; и/или

область VL представляет собой или содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610 или 618.

104. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-103, при этом:

область VH представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1-3, 140-144, 288, 289, 294, 295, 507, 532, 593, 596, 604, 611; и/или (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4-6, 145-148, 290, 291, 296, 297, 372-374, 513, 551, 594, 597, 605, 612; и (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7-11, 149-157, 279-287, 292, 293, 376-378, 517, 595, 606, 613; и/или

область VL представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26-36, 174-178, 302, 303, 380-392, 394-398, 589, 601, 607 или 614; (b) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37-46, 179-183, 304, 305, 399-409, 411-414, 590, 602, 608 или 615; и (c) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47-58, 184-194, 306, 307, 415-427, 429-433, 591 или 603.

105. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-104, при этом:

область VH представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 141, 143, 144, 288, 289, 507, 593, 604, 611; и/или (b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4, 5, 6, 145, 147, 148, 290, 291, 372, 513, 594, 605 или 612; и (c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 149, 153, 154, 155, 156, 157, 292, 293, 376, 517, 595, 606 или 613; и/или

область VL представляет собой или содержит (а) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 174, 176, 177, 178, 302, 303, 380, 381, 382, 589, 601, 607 или 614; (b) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 37, 38, 39, 41, 43, 44, 179, 181, 182, 183, 304, 305, 399, 400, 401, 402, 590, 602, 608 или 615; и (c) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 47, 48, 49, 51, 52, 55, 56, 185, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 306, 307, 415, 417, 418, 421, 591 или 603.

106. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-105, при этом область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 8, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 9, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 11, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 140, 145 и 149, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 149, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 150, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 142, 146 и 151, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 152, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 143, 147 и 153, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 144, 148 и 154, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 156, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 6 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 372 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 377, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 373 и 152, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 378, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 374 и 9, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 604, 605 и 606, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 290 и 292, соответственно; или

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно.

107. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-106, при этом область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 8, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 9, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141, 145 и 149, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 143, 147 и 153, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 144, 148 и 154, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 156, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 6 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 155, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 372 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3, 6 и 376, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 604, 605 и 606, соответственно;

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 290 и 292, соответственно; или

CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 289, 291 и 293, соответственно.

108. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-107, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 110-115, 247-256, 324, 325, 518-531, 533, 609, 617, 772-774 или 814-832.

109. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-108, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 115, 248, 252, 253, 254, 255, 256, 324, 325, 518, 519, 520, 521, 522, 609 или 617.

110. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-109, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; или

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно.

111. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-110, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617.

112. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-111, при этом область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26, 37 и 47, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27, 38 и 48, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28, 39 и 49, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 29, 40 и 50, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 39 и 51, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 31, 41 и 52, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 32, 42 и 53, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 30, 39 и 54, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 55, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 34, 44 и 56, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 35, 45 и 57, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 36, 46 и 58, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 184, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 174, 179 и 185, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ



ID NO: 388, 406 и 423, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 388, 407 и 424, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 389, 408 и 425, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 390, 183 и 193, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 391, 409 и 426, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 392, 40 и 427, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 394, 39 и 429, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 395, 411 и 430, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 396, 412 и 431, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 396, 412 и 58, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 397, 413 и 432, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 398, 414 и 433, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 614, 615 и 603, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 589, 590 и 591, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 607, 608 и 591, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 302, 304 и 306, соответственно; или

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 303, 305 и 307, соответственно.

113. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-112, при этом область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 26, 37 и 47, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ



ID NO: 589, 590 и 591, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 607, 608 и 591, соответственно;

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 302, 304 и 306, соответственно; или

CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ

ID NO: 303, 305 и 307, соответственно.

114. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-113, при этом область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 116-127, 257-267, 326, 327, 534-550, 552-557, 610, 618, 775-777 или 833-849.

115. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-114, при этом область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 116, 117, 118, 120, 121, 124, 125, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 326, 327, 534, 535, 536, 537, 538, 610 или 618.

116. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-115, при этом:

область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или

область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

117. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-116, при этом область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618.

118. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-117, при этом:

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 116, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 111 и 117, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 119, соответственно, или аминокислотные









последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 553, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 110 и 118, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 533 и 554, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 533 и 554, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 115 и 555, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 115 и 555, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 524 и 556, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 524 и 556, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 519 и 557, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 519 и 557, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно; или

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно.

119. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-118, при этом:





область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 324 и 326, соответственно; или

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 325 и 327, соответственно.

120. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-119, при этом фрагмент включает scFv.

121. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-120, при этом область VH и область VL соединены гибким линкером.

122. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 121, при этом scFv содержит линкер, содержащий аминокислотную последовательность GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 361).

123. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-122, при этом область VH является amino-концевой по отношению к области VL.

124. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-123, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 или 769-771, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-139, 268-278, 329, 442, 478, 558-576, 578-583, 585 или 769-771.

125. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-124, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 или 585, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-278, 329, 442, 478, 558-563 или 585.

126. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-

122, при этом область VH является карбокси-концевой по отношению к области VL.

127. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 99-122 и 126, при этом scFv содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 328 или 586, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 328 или 586.

128. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 89-127, при этом внутриклеточная сигнальная область содержит активирующий цитоплазматический сигнальный домен.

129. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 128, при этом активирующий цитоплазматический сигнальный домен способен индуцировать основной сигнал активации в Т-клетке, представляет собой компонент Т-клеточного рецептора (TCR) и/или содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM).

130. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 128 или варианту осуществления 129, при этом активирующий цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент.

131. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 128-130, при этом активирующий цитоплазматический домен является человеческим или получен из человеческого белка.

132. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 128-131, при этом активирующий цитоплазматический домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628.

133. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 128-132, при этом внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующую сигнальную область.

134. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 133, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы или его сигнальный фрагмент.

135. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 133 или варианту осуществления 134, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS, или его сигнальный фрагмент.

136. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 133-135, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB.

137. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 133-136, при этом костимулирующая сигнальная область является человеческой или получена

из человеческого белка.

138. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 133-137, при этом костимулирующая сигнальная область представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 626, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 626.

139. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 133-139, при этом костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и внутриклеточной сигнальной областью.

140. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 89-139, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD4, CD28 или CD8.

141. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 140, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен, полученный из CD28.

142. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 89-141, при этом трансмембранный домен является человеческим или получен из человеческого белка.

143. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 89-142, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 624, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 624.

144. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 89-143, при этом закодированный химерный антигенный рецептор содержит, от его N- к C-концу, в следующем порядке: антигенсвязывающий домен, спейсер, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен.

145. Генетически модифицированная клетка, содержащая полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-87 и 173-180.

146. Генетически модифицированная клетка, содержащая химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 88-144 и 181.

147. Генетически модифицированная клетка по варианту осуществления 145 или варианту осуществления 146, представляющая собой иммунную клетку.

148. Генетически модифицированная клетка по варианту осуществления 147, при этом иммунная клетка представляет собой первичную клетку, полученную от субъекта.

149. Генетически модифицированная клетка по варианту осуществления 147 или варианту осуществления 148, при этом иммунная клетка представляет собой НК-клетку или Т-клетку.

150. Генетически модифицированная клетка по любому из вариантов осуществления 147-149, при этом иммунная клетка представляет собой Т-клетку, и Т-клетка представляет

собой CD4+ и/или CD8+ Т-клетку.

151. Генетически модифицированная клетка по любому из вариантов осуществления 145-150, содержащая транскрибированную РНК, кодирующую химерный антигенный рецептор, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

152. Генетически модифицированная клетка по любому из вариантов осуществления 145-151, содержащая транскрибированную РНК, кодирующую химерный антигенный рецептор, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет сниженную гетерогенность в сравнении с гетерогенностью транскрибированной мРНК в клетке, кодирующей эталонный химерный антигенный рецептор, при этом указанный эталонный химерный антигенный рецептор содержит ту же аминокислотную последовательность, что и химерный антигенный рецептор, но закодированную иной полинуклеотидной последовательностью, имеющей одно или более нуклеотидных отличий в полинуклеотиде, кодирующем CAR, и/или в которой эталонный химерный антигенный рецептор закодирован полинуклеотидом, содержащим один или более сайтов донора сплайсинга и/или один или более сайтов акцептора сплайсинга в нуклеиновой кислоте, кодирующей спейсер.

153. Генетически модифицированная клетка по варианту осуществления 152, при этом гетерогенность РНК снижена на более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более.

154. Генетически модифицированная клетка по варианту осуществления 152 или варианту осуществления 153, при этом клетка, кодирующая эталонный CAR, содержит транскрибированную РНК, кодирующую эталонный CAR, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет гетерогенность РНК более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более.

155. Генетически модифицированная клетка по любому из вариантов осуществления 151-154, при этом гомогенность и/или гетерогенность РНК определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или жидкостной хроматографии.

156. Генетически модифицированная клетка по любому из вариантов осуществления 145-155, при этом среди множества генетически модифицированных клеток менее чем или менее чем примерно 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% клеток во множестве клеток имеют химерный антигенный рецептор, характеризующийся тонической сигнализацией и/или антиген-независимой активностью или сигнализацией.

157. Композиция, содержащая полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-87 и 173-179, химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 88-144 и 180 или генетически модифицированную клетку по любому из вариантов осуществления 144-156.

158. Композиция по варианту осуществления 157, дополнительно содержащая

фармацевтически приемлемый эксципиент.

159. Композиция по варианту осуществления 157 или варианту осуществления 158, которая является стерильной.

160. Способ лечения, включающий введение генетически модифицированных клеток по любому из вариантов осуществления 144-156 или композиции по любому из вариантов осуществления 157-159 субъекту, имеющему заболевание или нарушение.

161. Способ по варианту осуществления 160, при этом заболевание или нарушение связано с экспрессией антигена созревания В-клеток (BCMA).

162. Способ по варианту осуществления 160 или варианту осуществления 161, при этом заболевание или нарушение, связанное с BCMA, представляет собой заболевание, связанное с В-клетками.

163. Способ по любому из вариантов осуществления 160-162, при этом заболевание или нарушение, связанное с BCMA, представляет собой аутоиммунное заболевание или нарушение.

164. Способ по варианту осуществления 163, при этом аутоиммунное заболевание или нарушение представляет собой системную красную волчанку (SLE), волчаночный нефрит, воспалительное заболевание кишечника, ревматоидный артрит, ANCA-ассоциированный васкулит, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП), тромбоцитопеническую пурпуру (ТТП), аутоиммунную тромбоцитопению, болезнь Шагаса, болезнь Грэйва, гранулематоз Вегенера, узелковый полиартериит, синдром Шегрена, обыкновенную пузырчатку, склеродермию, рассеянный склероз, псориаз, IgA-нефропатию, IgM-полиневропатию, васкулит, сахарный диабет, синдром Рейно, антифосфолипидный синдром, болезнь Гудпасчера, болезнь Кавасаки, аутоиммунную гемолитическую анемию, миастению или прогрессирующий гломерулонефрит.

165. Способ по любому из вариантов осуществления 160-164, при этом заболевание или нарушение, связанное с BCMA, представляет собой рак.

166. Способ по варианту осуществления 165, при этом рак представляет собой BCMA-экспрессирующий рак.

167. Способ по варианту осуществления 165 или 166, при этом рак представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование.

168. Способ по любому из вариантов осуществления 165-167, при этом рак представляет собой лимфому, лейкоз или злокачественное новообразование из плазматических клеток.

169. Способ по варианту осуществления 168, при этом рак представляет собой лимфому, и лимфома представляет собой лимфому Беркитта, неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Ходжкина, макроглобулинемию Вальденстрема, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфому с нерассеченными ядрами, лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), лимфому из клеток маргинальной зоны, лимфому маргинальной зоны селезенки, узелковую моноцитоподобную В-клеточную лимфому,

иммунобластную лимфому, крупноклеточную лимфому, диффузную смешанно-клеточную лимфому, легочную В-клеточную лимфангиому, мелколимфоцитарную лимфому, первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, лимфоплазматическую лимфому (LPL) или лимфому из клеток мантийной зоны (MCL).

170. Способ по варианту осуществления 168, при этом рак представляет собой лейкоз, и лейкоз представляет собой хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), плазмоклеточный лейкоз или острый лимфоцитарный лейкоз (ALL).

171. Способ по варианту осуществления 168, при этом рак представляет собой злокачественное новообразование из плазматических клеток, и злокачественное новообразование из плазматических клеток представляет собой множественную миелому (MM) или плазмацитому.

172. Способ по любому из вариантов осуществления 165-168 и 171, при этом рак представляет собой множественную миелому (MM).

173. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-87, при этом антигенсвязывающий домен и/или закодированный химерный антигенный рецептор демонстрирует предпочтительное связывание с, и/или имеет большую аффинность связывания с, ВСМА, связанным с мембраной, чем с растворимым ВСМА.

174. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-87 и 173, содержащий последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 751-762, или последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 751-762, и сохраняющий функцию связывания с ВСМА и сохраняющий сниженную гетерогенность РНК.

175. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-87, 173 и 174, при этом одно или более из шарнира, СН2 и СН3 полностью или частично получены из IgG4 или IgG2, необязательно, человеческого IgG4 или человеческого IgG2.

176. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-87, 173-175, при этом шарнир, СН2 и СН3 получены из IgG4.

177. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-87 и 173-176, при этом одно или более из шарнира, СН2 и СН3 являются химерными и содержат последовательность, полученную из IgG4 и IgG2.

178. Полинуклеотид по варианту осуществления 177, при этом спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4, имеющий по меньшей мере одну аминокислотную замену в сравнении с IgG4 человека, химерную область СН2 IgG2/4 и область СН3 IgG4.

179. Полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-87 и 173-178, при этом закодированный спейсер представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649.

180. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 88-144, при этом антигенсвязывающий домен и/или химерный антигенный рецептор

демонстрирует предпочтительное связывание с, и/или имеет большую аффинность связывания с, ВСМА, связанным с мембраной, чем с растворимым ВСМА.

181. Химерный антигенный рецептор по любому из вариантов осуществления 88-144, при этом антигенсвязывающий домен и/или химерный антигенный рецептор, или величина, являющаяся показателем функции или активности закодированного химерного антигенного рецептора, после воздействия клеток, экспрессирующих на поверхности ВСМА, не уменьшается, или не блокируется, или существенно не уменьшается или не блокируется, в присутствии растворимой или отделившейся от мембраны формы ВСМА.

182. Химерный антигенный рецептор по варианту осуществления 181, при этом концентрация, или количество, растворимой или отделившейся от мембраны формы ВСМА соответствует концентрации, или количеству, имеющей место в сыворотке или крови, или плазме у субъекта, или пациента с множественной миеломой, или в среднем в популяции пациентов с заболеванием или нарушением, или концентрации, или количеству, растворимой или отделившейся от мембраны формы ВСМА, при которой связывание, или величина, уменьшается или блокируется, или существенно уменьшается или блокируется, в случае клеток, экспрессирующих эталонный анти-ВСМА рекомбинантный рецептор, необязательно, эталонный анти-ВСМА CAR, в таком же анализе.

183. Способ определения гетерогенности транскрибированной нуклеиновой кислоты трансгена, включающий:

а) амплификацию транскрибированной нуклеиновой кислоты с использованием по меньшей мере одной пары 5' и 3'-праймеров, при этом по меньшей мере одна пара включает 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5'-нетранслируемой области (5' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3'-нетранслируемой области (3' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, с получением одного или более амплифицированных продуктов; и

б) обнаружение амплифицированных продуктов, при этом присутствие двух или более амплифицированных продуктов из по меньшей мере одной пары 5' и 3'-праймеров указывает на гетерогенность амплифицированных продуктов.

184. Способ по варианту осуществления 183, при этом обнаруженные отличия на этапе б) представляют собой разные длины амплифицированных транскриптов.

185. Способ по варианту осуществления 183, при этом отличия на этапе б) представляют собой отличия в хроматографических профилях амплифицированных транскриптов.

186. Способ по любому из вариантов осуществления 183-185, при этом отличия в амплифицированных продуктах определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или хроматографии.

187. Способ по любому из вариантов осуществления 183-186, при этом 5'-праймер является специфическим для последовательности, транскрибированной с области

промотора транскрибированной нуклеиновой кислоты.

188. Способ по любому из вариантов осуществления 183-187, при этом транскрибированную нуклеиновую кислоту амплифицируют с использованием 3'-праймера, специфического для последовательности в кодирующей аминокислотную последовательность полинуклеотиде, и/или 3'-нетранслируемой области транскрибированной пре-мРНК.

189. Способ по любому из вариантов осуществления 183-188, при этом 3'-праймер является специфическим для последовательности полиаденилирования или области энхансера 3'-нетранслируемой области транскрибированной пре-мРНК.

190. Способ по любому из вариантов осуществления 183-189, при этом этап а) осуществляют путем одной реакции амплификации, с использованием одной пары 5' и 3'-праймеров, включающей 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5'-нетранслируемой области (5' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3'-нетранслируемой области (3' UTR).

191. Способ по любому из вариантов осуществления 183-190, при этом этап а) осуществляют путем параллельных или последовательных реакций амплификации с использованием первой пары 5' и 3'-праймеров, второй пары 5' и 3'-праймеров и, необязательно, дополнительных пар 5' и 3'-праймеров, при этом:

первая пара 5' и 3'-праймеров включает 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5' UTR транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3' UTR транскрибированной нуклеиновой кислоты;

вторая пара 5' и 3'-праймеров включает 5'-праймер, последовательность которого комплементарна части транслируемой последовательности транскрипта нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, последовательность которого комплементарна нуклеотидной последовательности в 3' UTR транскрипта; и

необязательно, каждая из дополнительных пар 5' и 3'-праймеров включает последовательности, комплементарные последовательностям в транслируемой области транскрипта.

192. Способ по варианту осуществления 191, при этом в параллельных или последовательных реакциях амплификации амплифицируют перекрывающиеся части транскрипта.

193. Способ по любому из вариантов осуществления 183-192, при этом амплифицированные продукты, согласно предсказанию, имеют длину примерно 1,5 кб, 2 кб, 2,5 кб, 3 кб, 3,5 кб, 4 кб, 4,5 кб, 5 кб, 5,5 кб, 6 кб, 7 кб или 8 кб.

194. Способ по любому из вариантов осуществления 183-193, при этом транскрибированную нуклеиновую кислоту, которая, как установлено, имеет гетерогенность, идентифицируют в качестве трансгена-кандидата для удаления одного или более сайтов сплайсинга.

195. Способ по варианту осуществления 194, при этом транскрибированная нуклеиновая кислота трансгена-кандидата имеет гетерогенность по меньшей мере или по меньшей мере примерно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или более, после экспрессии в клетке.

196. Способ уменьшения гетерогенности экспрессированного трансгенного транскрипта, включающий:

а) идентификацию трансгена-кандидата для удаления сайтов сплайсинга в соответствии со способом по варианту осуществления 194 или варианту осуществления 195;

б) идентификацию одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга; и

с) модификацию последовательности нуклеиновой кислоты внутри, или вблизи, одного или более сайтов донора сплайсинга, идентифицированных в б), с получением модифицированного полинуклеотида.

197. Способ по варианту осуществления 196, дополнительно включающий: d) оценку трансгена в качестве кандидата для удаления сайтов сплайсинга, как на этапе а).

198. Способ по варианту осуществления 197, дополнительно включающий e) повторение этапов б)-d) до уменьшения гетерогенности транскрипта на этапе d) в сравнении с гетерогенностью транскрипта, определенной на этапе а).

199. Способ по любому из вариантов осуществления 196-198, при этом один или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга имеют показатель события сплайсинга, или вероятности события сплайсинга, примерно или по меньшей мере примерно 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95 или 1,0.

200. Способ по любому из вариантов осуществления 196-199, при этом сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга определяют независимо.

201. Способ по любому из вариантов осуществления 196-200, при этом сайт(ы) акцептора сплайсинга и/или сайт(ы) донора сплайсинга является/являются каноническими, не каноническими и/или скрытыми сайтами акцептора сплайсинга и/или сайтами донора сплайсинга.

202. Способ по любому из вариантов осуществления 196-201, при этом трансген представляет собой химерный антигенный рецептор или фрагмент химерного антигенного рецептора.

203. Способ по варианту осуществления 202, при этом полипептид CAR содержит антигенсвязывающий домен, содержащий фрагмент антитела, необязательно, одноцепочечный фрагмент антитела (scFv), содержащий вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), область спейсера, трансмембранную область и внутриклеточную сигнальную область.

204. Способ по варианту осуществления 202 или варианту осуществления 203, при этом модифицированный полинуклеотид не модифицирован в кодирующей последовательности для антигенсвязывающего домена закодированного полипептида CAR.

205. Способ по любому из вариантов осуществления 196-204, при этом закодированная аминокислотная последовательность трансгена не изменена после модификации полинуклеотида.

206. Способ по любому из вариантов осуществления 196-205, при этом РНК, транскрибированная с модифицированного полинуклеотида, имеет гомогенность по меньшей мере или по меньшей мере примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% после экспрессии не модифицированного полинуклеотида в клетке.

207. Способ по любому из вариантов осуществления 183-206, при этом клетка представляет собой человеческую клетку.

208. Способ по любому из вариантов осуществления 183-207, при этом клетка представляет собой Т-клетку.

## IX. ПРИМЕРЫ

[0606] Следующие примеры приведены исключительно в иллюстративных целях и не должны ограничивать объем настоящего изобретения.

### **Пример 1. Получение и оценка анти-BCMA антитела (только цепи VH)**

[0607] Были получены и оценены иллюстративные анти-BCMA антитела, содержащие переменную область тяжелой цепи (VH), специфически связывающую BCMA даже в отсутствие переменной области легкой цепи (VL).

#### **А. Селекция библиотеки и получение антитела**

[0608] Ряд BCMA-связывающих областей VH получали в серии этапов селекции, проводимой на представителях дцДНК-закодированной His-маркированной библиотеки VH антител здорового донора-человека, экспонированной в бесклеточной системе. Представителей библиотеки VH подвергали нескольким раундам скрининга для отбора областей VH, которые специфически связывают растворимый человеческий BCMA, слитый с Fc-областью иммуноглобулина (hBCMA-Fc). Области VH из отобранных пулов hBCMA-Fc подвергали скринингу методом проточной цитометрии с использованием флуорохром-конъюгированного анти-HIS антитела на связывание с рекомбинантной линией клеток НЕК293, экспрессирующих человеческий BCMA (линия клеток hBCMA/НЕК293), в сравнении с родительской линией клеток НЕК293, не экспрессирующих BCMA, а также на связывание с линейными клетками миеломы человека, экспрессирующими эндогенный BCMA (клетки H929). В результате были идентифицированы клоны области VH, демонстрирующие специфическое связывание с клетками hBCMA/НЕК293 и, в меньшей степени, с клетками H929.

[0609] Иллюстративные клоны VH, демонстрирующие специфическое связывание с линейными клетками, экспрессирующими BCMA, но не с BCMA-отрицательными контрольными клетками, секвенировали и очищали для дальнейшего определения характеристик. Клоны очищали и титровали, и измеряли их аффинность связывания ( $EC_{50}$ ) с клетками hBCMA/НЕК293 аналитическим методом проточной цитометрии с флуорохром-конъюгированным анти-HIS антителом. В Таблице E1 приведены последовательности определяющей комплементарности области 3 (CDR-H3) тяжелой цепи

иллюстративных клонов, содержащих каркасные области VH3 человека, и их соответствующие значения аффинности ( $EC_{50}$ ), наблюдаемые в данном исследовании.

**Таблица E1. Аминокислотные последовательности CDR3 для репрезентативных клонов VH**

Клон VH	Последовательность CDR3 тяжелой цепи (CDR-H3) <sup>a</sup>	Идентификационный номер последовательности CDR-H3	$EC_{50}$ (нМ) <sup>b</sup>
VH-1	VDGPPSFDI	SEQ ID NO: 10	>100
VH-2	WSAPTDY	SEQ ID NO: 7	25
VH-3	VDGDDAFDI	SEQ ID NO: 279	>100
VH-4	DPLSWDSSGKGPR	SEQ ID NO: 280	100
VH-5	ENYDFWSWRYYYDMDV	SEQ ID NO: 281	>100
VH-6	VDGPPSYDI	SEQ ID NO: 282	>100
VH-7	GDWDDAFDI	SEQ ID NO: 283	>100
VH-8	VDGDYVDDY	SEQ ID NO: 9	H/O
VH-9	VDGDYEDY	SEQ ID NO: 284	>100
VH-10	DVPSSGDDAFDI	SEQ ID NO: 285	>100
VH-11	VDGDDVFDI	SEQ ID NO: 286	>100
VH-12	VDGDAFDI	SEQ ID NO: 287	100

<sup>a</sup>В соответствии с нумерацией Kabat.

<sup>b</sup>H/O означает не определено.

### **Пример 2. Получение и оценка анти-BCMA антител (scFv)**

[0610] Иллюстративные анти-BCMA антитела, в формате одноцепочечных фрагментов антитела (scFv), были идентифицированы и оценены на связывание с BCMA.

#### **А. Селекция библиотеки и получение антитела scFv**

[0611] Иллюстративные анти-BCMA scFv антитела получали различными методами селекции, проводимой на дцДНК-закодированных библиотеках антител здорового донора-человека, экспонированных в бесклеточной системе. В одном подходе создавали пары из представителей библиотеки области VH, обогащенных после первого раунда скрининга в подходе, описанном в Примере 1, путем перетасовки с представителями библиотеки VL из антител здорового донора-человека, с получением библиотеки scFv в формате VH-(G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>-VL. Полученные библиотеки scFv в последующих раундах селекции обогащали на основании специфического связывания с BCMA-экспрессирующими клетками HEK293 в сравнении с родительскими клетками HEK293.

[0612] В другом подходе проводили *de novo* селекцию путем скрининга полученной от здорового донора-человека библиотеки scFv на BCMA-специфическое связывание с hBCMA-Fc в присутствии или в отсутствие конкурентной элюции мышинным анти-BCMA

эталонным scFv антителом (либо ВСМА-C1, VL-VH scFv антитело, SEQ ID NO: 328; либо ВСМА-C2, VH-VL scFv антитело, SEQ ID NO: 329). После по меньшей мере 2 раундов селекции связывающие scFv собирали.

[0613] Специфическое связывание полученных клонов scFv с ВСМА-экспрессирующими клетками НЕК293, в сравнении с контрольными клетками, не экспрессирующими ВСМА, оценивали методом проточной цитометрии либо с *in vitro* транслированным грубым клеточным экстрактом, либо с продуцированным бактериями супернатантом. Некоторые клоны scFv, демонстрирующие предпочтительное связывание с ВСМА, дополнительно анализировали.

[0614] Выбранные клоны scFv секвенировали с использованием прямых и обратных праймеров, и очищали для дальнейшего определения характеристик. В Таблице E2 приведены идентификаторы последовательностей (SEQ ID NO), соответствующие аминокислотным (ак) и нуклеотидным (нт) последовательностям scFv, и аминокислотные последовательности соответствующих вариабельных областей тяжелой цепи (VH) или легкой цепи (VL), CDR и каркасных областей (FR). В случае клона ВСМА-22 первый остаток CDR3 легкой цепи (цистеин), который, как установлено, сохранялся из каркасной области зародышевой линии, заменяли остатком серина, с получением дополнительного scFv, обозначенного ВСМА-23. В Таблице E2 также приведена последовательность иллюстративных мышинных анти-ВСМА эталонных антител, используемых в качестве контроля и в исследованиях конкуренции, описанных в последующих примерах.

<b>Таблица E2. Идентификатор последовательности (SEQ ID NO) иллюстративных клонов</b>								
Клон №	Тяжелая цепь			Легкая цепь			scFv	
	V H	CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3	VH FR (FR1, 2, 3, 4 Kabat )	VL	CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3	VL FR (FR1, 2, 3, 4, Kabat)	ак	нт
ВСМ А-1	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	116	26, 37, 47 (Kabat) 26, 37, 47 (Chothia) 26, 37, 47 (AbM)	72, 83, 93, 102	12 8	330
ВСМ А-2	11 1	2, 5, 8 (Kabat) 13, 17, 8 (Chothia) 20, 24, 8 (AbM)	60, 65, 68, 71	117	27, 38, 48 (Kabat) 27, 38, 48 (Chothia) 27, 38, 48 (AbM)	73, 84, 94, 103	12 9	331

BCM A-3	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	118	28, 39, 49 (Kabat) 28, 39, 49 (Chothia) 28, 39, 49 (AbM)	74, 85, 93, 104	13 0	332
BCM A-4	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	119	29, 40, 50 (Kabat) 29, 40, 50 (Chothia) 29, 40, 50 (AbM)	75, 86, 95, 104	13 1	333
BCM A-5	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	120	30, 39, 51 (Kabat) 30, 39, 51 (Chothia) 30, 39, 51 (AbM)	76, 85, 93, 105	13 2	334
BCM A-6	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	121	31, 41, 52 (Kabat) 31, 41, 52 (Chothia) 31, 41, 52 (AbM)	77, 87, 96, 104	13 3	335
BCM A-7	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	122	32, 42, 53 (Kabat) 32, 42, 53 (Chothia) 32, 42, 53 (AbM)	78, 88, 97, 106	13 4	336
BCM A-8	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	123	30, 39, 54 (Kabat) 30, 39, 54 (Chothia) 30, 39, 54 (AbM)	76, 85, 93, 107	13 5	337
BCM A-9	11 2	2, 5, 9 (Kabat) 13, 17, 9 (Chothia) 20, 24, 9 (AbM)	61, 65, 69, 70	124	33, 43, 55 (Kabat) 33, 43, 55 (Chothia) 33, 43, 55 (AbM)	79, 89, 98, 108	13 6	338
BCM A-10	11 3	2, 5, 10 (Kabat) 14, 17, 10 (Chothia) 21, 24, 10 (AbM)	62, 65, 68, 71	125	34, 44, 56 (Kabat) 34, 44, 56 (Chothia) 34, 44, 56 (AbM)	80, 90, 99, 108	13 7	339

BCM A-11	11 4	3, 6, 11 (Kabat) 15, 18, 11 (Chothia) 22, 25, 11 (AbM)	63, 66, 69, 71	126	35, 45, 57 (Kabat) 35, 45, 57 (Chothia) 35, 45, 57 (AbM)	81, 91, 100, 108	13 8	340
BCM A-12	11 5	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	60, 65, 68, 71	127	36, 46, 58 (Kabat) 36, 46, 58 (Chothia) 36, 46, 58 (AbM)	82, 92, 101, 109	13 9	341
BCM A-13	24 7	140, 145, 149 (Kabat) 158, 161, 149 (Chothia) 165, 170, 149 (AbM)	195, 204, 210, 217	257	174, 179, 184 (Kabat) 174, 179, 184 (Chothia) 174, 179, 184 (AbM)	221, 228, 233, 243	26 8	342
BCM A-14	24 8	141, 145, 149 (Kabat) 158, 161, 149 (Chothia) 166, 170, 149 (AbM)	196, 204, 211, 218	258	174, 179, 185 (Kabat) 174, 179, 185 (Chothia) 174, 179, 185 (AbM)	221, 228, 234, 109	26 9	343
BCM A-15	24 9	141, 145, 150 (Kabat) 158, 161, 150 (Chothia) 166, 170, 150 (AbM)	197, 204, 212, 70	259	174, 179, 186 (Kabat) 174, 179, 186 (Chothia) 174, 179, 186 (AbM)	222, 228, 235, 109	27 0	344
BCM A-16	25 0	142, 146, 151 (Kabat) 159, 162, 151 (Chothia) 167, 171, 151 (AbM)	198, 205, 213, 70	260	174, 179, 187 (Kabat) 174, 179, 187 (Chothia) 174, 179, 187 (AbM)	223, 228, 235, 109	27 1	345

BCM A-17	25 1	2, 5, 152 (Kabat) 13, 17, 152 (Chothia) 20, 24, 152 (AbM)	199, 206, 69, 219	261	175, 180, 188 (Kabat) 175, 180, 188 (Chothia) 175, 180, 188 (AbM)	224, 229, 237, 109	27 2	346
BCM A-18	25 2	143, 147, 153 (Kabat) 158, 163, 153 (Chothia) 168, 172, 153 (AbM)	200, 207, 214, 70	262	174, 179, 189 (Kabat) 174, 179, 189 (Chothia) 174, 179, 189 (AbM)	222, 228, 238, 109	27 3	347
BCM A-19	25 3	144, 148, 154 (Kabat) 160, 164, 54 (Chothia) 169, 173, 154 (AbM)	201, 208, 215, 220	263	176, 181, 190 (Kabat) 176, 181, 190 (Chothia) 176, 181, 190 (AbM)	225, 230, 239, 244	27 4	348
BCM A-20	25 4	3, 6, 155 (Kabat) 15, 18, 155 (Chothia) 22, 25, 155 (AbM)	202, 209, 216, 70	264	177, 182, 191 (Kabat) 177, 182, 191 (Chothia) 177, 182, 191 (AbM)	226, 231, 240, 245	27 5	349
BCM A-21	25 5	2, 5, 156 (Kabat) 13, 17, 156 (Chothia) 20, 24, 156 (AbM)	203, 65, 68, 70	265	174, 179, 192 (Kabat) 174, 179, 192 (Chothia) 174, 179, 192 (AbM)	222, 228, 241, 246	27 6	350

BCM A-22	25 6	2, 5, 157 (Kabat) 13, 17, 157 (Chothia) 20, 24, 157 (AbM)	60, 65, 68, 70	266	178, 183, 193 (Kabat) 178, 183, 193 (Chothia) 178, 183, 193 (AbM)	227, 232, 242, 246	27 7	351
BCM A-23	25 6	2, 5, 157 (Kabat) 13, 17, 157 (Chothia) 20, 24, 157 (AbM)	60, 65, 68, 70	267	178, 183, 194 (Kabat) 178, 183, 194 (Chothia) 178, 183, 194 (AbM)	227, 232, 242, 246	27 8	352
BCM A-24	51 8	2, 6, 376 (Kabat) 13, 18, 376 (Chothia) 20, 25, 376 (AbM)	61, 65, 69, 71	534	30, 399, 415 (Kabat) 30, 399, 415 (Chothia) 30, 399, 415 (AbM)	76, 85, 483, 508	55 8	
BCM A-25	51 9	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	436, 64, 67, 70	535	380, 400, 416 (Kabat) 380, 400, 416 (Chothia) 380, 400, 416 (AbM)	446, 467, 484, 502	55 9	716, 717
BCM A-26	11 5	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	60, 65, 68, 71	36	33, 43, 421 (Kabat) 33, 43, 421 (Chothia) 33, 43, 421 (AbM)	80, 89, 98, 108	56 0	718, 719
BCM A-27	52 0	3, 6, 155 (Kabat) 15, 18, 155 (Chothia) 22, 25, 155 (AbM)	434, 209, 216, 70	264	177, 182, 191 (Kabat) 177, 182, 191 (Chothia) 177, 182, 191 (AbM)	226, 231, 240, 245	56 1	

BCM A-28	52 1	3, 372, 376 (Kabat) 15, 514, 376 (Chothia) 22, 510, 376 (AbM)	63, 209, 69, 444	537	381, 401, 417 (Kabat) 381, 401, 417 (Chothia) 381, 401, 417 (AbM)	447, 468, 485, 508	56 2	
BCM A-29	52 2	3, 6, 376 (Kabat) 15, 18, 376 (Chothia) 22, 25, 376 (AbM)	63, 209, 69, 71	538	382, 402, 418 (Kabat) 382, 402, 418 (Chothia) 382, 402, 418 (AbM)	448, 469, 486, 503	56 3	
BCM A-30	52 3	3, 6, 377 (Kabat) 12, 18, 377 (Chothia) 509, 25, 377 (AbM)	435, 209, 69, 71	539	383, 403, 419 (Kabat) 383, 403, 419 (Chothia) 383, 403, 419 (AbM)	449, 470, 487, 104	56 4	
BCM A-31	51 9	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	436, 64, 67, 70	540	384, 39, 54 (Kabat) 384, 39, 54 (Chothia) 384, 39, 54 (AbM)	450, 471, 93, 504	56 5	
BCM A-32	52 4	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	437, 65, 68, 71	541	385, 180, 58 (Kabat) 385, 180, 58 (Chothia) 385, 180, 58 (AbM)	451, 472, 488, 109	56 6	
BCM A-33	52 5	2, 373, 152 (Kabat) 13, 515, 152 (Chothia) 20, 511, 152 (AbM)	199, 65, 69, 219	261	175, 180, 188 (Kabat) 175, 180, 188 (Chothia) 175, 180, 188 (AbM)	224, 229, 237, 109	56 7	

BCM A-34	52 6	3, 6, 11 (Kabat) 15, 18, 11 (Chothia) 22, 25, 11 (AbM)	438, 209, 69, 71	542	386, 404, 420 (Kabat) 386, 404, 420 (Chothia) 386, 404, 420 (AbM)	452, 84, 489, 504	56 8	
BCM A-35	52 7	2, 5, 378 (Kabat) 13, 17, 378 (Chothia) 20, 24, 378 (AbM)	61, 65, 69, 70	543	33, 43, 421 (Kabat) 33, 43, 421 (Chothia) 33, 43, 421 (AbM)	453, 89, 98, 505	56 9	
BCM A-36	52 8	2, 5, 9 (Kabat) 13, 17, 9 (Chothia) 20, 24, 9 (AbM)	199, 65, 69, 70	544	387, 405, 422 (Kabat) 387, 405, 422 (Chothia) 387, 405, 422 (AbM)	454, 473, 490, 109	57 0	
BCM A-37	52 9	2, 5, 9 (Kabat) 13, 17, 9 (Chothia) 20, 24, 9 (AbM)	61, 65, 441, 70	545	388, 406, 423 (Kabat) 388, 406, 423 (Chothia) 388, 406, 423 (AbM)	455, 474, 491, 109	57 1	
BCM A-38	52 8	2, 5, 9 (Kabat) 13, 17, 9 (Chothia) 20, 24, 9 (AbM)	199, 65, 69, 70	546	388, 407, 424 (Kabat) 388, 407, 424 (Chothia) 388, 407, 424 (AbM)	456, 474, 492, 109	57 2	
BCM A-39	52 2	3, 6, 376 (Kabat) 15, 18, 376 (Chothia) 22, 25, 376 (AbM)	63, 209, 69, 71	547	389, 408, 425 (Kabat) 389, 408, 425 (Chothia) 389, 408, 425 (AbM)	457, 475, 493, 103	57 3	

BCM A-40	25 6	2, 5, 157 (Kabat) 13, 17, 157 (Chothia) 20, 24, 157 (AbM)	60, 65, 68, 70	548	390, 183, 193 (Kabat) 390, 183, 193 (Chothia) 390, 183, 193 (AbM)	227, 232, 242, 108	57 4	
BCM A-41	53 0	2, 374, 9 (Kabat) 13, 516, 9 (Chothia) 20, 512, 9 (AbM)	199, 65, 68, 70	549	391, 409, 426 (Kabat) 391, 409, 426 (Chothia) 391, 409, 426 (AbM)	458, 476, 494, 109	57 5	584
BCM A-42	53 1	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	439, 64, 67, 70	550	392, 40, 427 (Kabat) 392, 40, 427 (Chothia) 392, 40, 427 (AbM)	459, 477, 495, 506	57 6	
BCM A-44	51 9	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	436, 64, 67, 70	552	394, 39, 429 (Kabat) 394, 39, 429 (Chothia) 394, 39, 429 (AbM)	461, 85, 93, 107	57 8	
BCM A-45	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	553	395, 411, 430 (Kabat) 395, 411, 430 (Chothia) 395, 411, 430 (AbM)	462, 479, 497, 105	57 9	
BCM A-46	11 0	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	59, 64, 67, 70	118	28, 39, 49 (Kabat) 28, 39, 49 (Chothia) 28, 39, 49 (AbM)	74, 85, 93, 104	13 0	

BCM A-47	53 3	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	197, 65, 443, 445	554	396, 412, 431 (Kabat) 396, 412, 431 (Chothia) 396, 412, 431 (AbM)	463, 480, 498, 108	58 0	
BCM A-48	11 5	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	60, 65, 68, 71	555	396, 412, 58 (Kabat) 396, 412, 58 (Chothia) 396, 412, 58 (AbM)	464, 480, 499, 109	58 1	
BCM A-49	52 4	2, 5, 10 (Kabat) 13, 17, 10 (Chothia) 20, 24, 10 (AbM)	437, 65, 68, 71	556	397, 413, 432 (Kabat) 397, 413, 432 (Chothia) 397, 413, 432 (AbM)	465, 481, 500, 109	58 2	
BCM A-51	51 9	1, 4, 7 (Kabat) 12, 16, 7 (Chothia) 19, 23, 7 (AbM)	436, 64, 67, 70	557	398, 414, 433 (Kabat) 398, 414, 433 (Chothia) 398, 414, 433 (AbM)	466, 482, 501, 508	58 3	

[0615] Иллюстративные клоны очищали и титровали, и тестировали их показатели аффинности связывания ( $EC_{50}$ ) с hVMCA: ВСМА-1, ВСМА-2, ВСМА-3, ВСМА-4, ВСМА-5, ВСМА-6, ВСМА-7, ВСМА-8, ВСМА-9, ВСМА-10, ВСМА-11, ВСМА-12, ВСМА-13, ВСМА-14, ВСМА-14, ВСМА-15, ВСМА-16, ВСМА-17, ВСМА-18, ВСМА-19, ВСМА-20, ВСМА-21, ВСМА-22, ВСМА-23, ВСМА-24, ВСМА-25, ВСМА-26, ВСМА-27, ВСМА-28 и ВСМА-29. Также оценивали другие анти-ВСМА scFv антитела (смотри Таблицу Е3), например, scFv, содержащий последовательности VH и VL антител, описанных в WO2016090327, и scFv, содержащий последовательности VH и VL анти-ВСМА антител, описанных в WO2010104949.

<b>Таблица Е3. Идентификатор последовательностей (SEQ ID NO) для иллюстративных анти-ВСМА антител</b>			
	<b>Тяжелая цепь</b>	<b>Легкая цепь</b>	<b>scFv</b>

<b>Клон #</b>	<b>VH</b>	<b>CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3</b>	<b>VH FR (FR1, 2, 3, 4 Kabat)</b>	<b>VL</b>	<b>CDR-L1, CDR- L2, CDR-L3</b>	<b>VL FR (FR1, 2, 3, 4, Kabat)</b>	<b>ак</b>	<b>нт</b>
BCMA -52	609	507, 513, 517 (Kabat) 532, 551, 517 (Chothia) 577, 587, 517 (AbM) 604, 605, 606		61 0	589, 590, 591 (Kabat) 589, 590, 591 (Chothia) 589, 590, 591 (AbM) 607, 608, 591		442	647, 440
BCMA -55	617	593, 594, 595 (Kabat) 596, 597, 595 (Chothia) 598, 599, 595 (AbM) 611, 612, 613		61 8	601, 602, 603 (Kabat) 601, 602, 603 (Chothia) 601, 602, 603 (AbM) 614, 615, 603		478	648, 460
BCMA -C1, VH-VL	324	288, 290, 292 (Kabat) 294, 296, 292 (Chothia) 298, 300, 292 (AbM)	308, 310, 312, 314	32 6	302, 304, 306 (Kabat) 302, 304, 306 (Chothia) 302, 304, 306 (AbM)	316, 318, 320, 322	585	
BCMA -C1, VL-VH	324	288, 290, 292 (Kabat) 294, 296, 292 (Chothia) 298, 300, 292 (AbM)	308, 310, 312, 314	32 6	302, 304, 306 (Kabat) 302, 304, 306 (Chothia) 302, 304, 306 (AbM)	316, 318, 320, 322	328	

BCMA -C2, VH-VL	325	289, 291, 293 (Kabat) 295, 297, 293 (Chothia) 299, 301, 293 (AbM)	309, 311, 313, 315	32 7	303, 305, 307 (Kabat) 303, 305, 307 (Chothia) 303, 305, 307 (AbM)	317, 319, 321, 323	329	
BCMA -C2, VL-VH	325	289, 291, 293 (Kabat) 295, 297, 293 (Chothia) 299, 301, 293 (AbM)	309, 311, 313, 315	32 7	303, 305, 307 (Kabat) 303, 305, 307 (Chothia) 303, 305, 307 (AbM)	317, 319, 321, 323	586	

**Пример 3. Получение химерных антигенных рецепторов (CAR) против BCMA и клеток, экспрессирующих анти-BCMA CAR**

[0616] Получали полинуклеотиды, кодирующие иллюстративные химерные антигенные рецепторы (CAR), каждый из которых содержит человеческий анти-BCMA антигенсвязывающий домен scFv. В число человеческих анти-BCMA scFv входили те, которые описаны в Примере 2. Также в число полученных CAR входили CAR, содержащие scFv, содержащий последовательности VH и VL антител, описанных в WO2016090327. Также получали анти-BCMA CAR, содержащие scFv с последовательностями VH и VL из анти-BCMA антител, описанных в WO2010104949. В некоторых случаях область VH scFv находилась в амино-концевом положении относительно VL, и в некоторых случаях область VL находилась в амино-концевом положении относительно VH. Области scFv в полученных CAR приведены в Таблице E4.

[0617] В частности, иллюстративный конструкт полинуклеотида CAR содержал нуклеиновую кислоту, кодирующую сигнальную последовательность IgG-каппа человека (SEQ ID NO: 619, кодирующая SEQ ID NO: 620), анти-BCMA scFv человека (SEQ ID NO: 128-130, 132, 133, 136, 137, 269, 273-277, 442, 478 и 558-563), спейсер (такой как спейсер, содержащий модифицированный шарнир, CH2-CH3 IgG4 (SEQ ID NO: 621, кодирующая SEQ ID NO: 649) (такой спейсер в некоторых случаях может быть назван «ДС») или, в некоторых случаях, более короткий спейсер (который может быть назван «КС»), например, спейсер, полученный из шарнирной области IgG, например, полученная из IgG4 шарнирная область, или ее модифицированная форма, или полученный из внеклеточного домена CD28; трансмембранный домен CD28 человека; полученную из 4-1BB человека внутриклеточную ко-сигнальную последовательность и полученный из CD3-дзета человека внутриклеточный сигнальный домен. Иллюстративные спейсеры включали спейсеры, полученные из шарнирной области IgG4 (например, те, которые закодированы, например, SEQ ID NO: 364, и/или содержат аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 363), и полученные из

эктодомена CD28 спейсеры, такие как те, которые закодированы, например, последовательностью SEQ ID NO: 629, или те, которые имеют аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 630.

[0618] Также был получен полинуклеотид, кодирующий другой конструкт CAR, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую сигнальную последовательность IgG-каппа человека (SEQ ID NO: 619, кодирующая SEQ ID NO: 620), мышинный анти-BCMA scFv (SEQ ID NO: 328 (BCMA-C1; VL-VH), 329 (BCMA-C2; VH-VL), 585 (BCMA-C1; VH-VL) или 586 (BCMAC-2; VL-VH)), спейсер (SEQ ID NO: 621, кодирующая SEQ ID NO: 649), трансмембранный домен CD28 человека, полученную из 4-1BB человека внутриклеточную ко-сигнальную последовательность; и полученный из CD3-дзета внутриклеточный сигнальный домен.

<b>Таблица Е4. Последовательности для иллюстративных клонов VH-VL scFv (SEQ ID NO)</b>				
<b>Конструкт</b>	<b>Варибельная область тяжелой цепи (VH)</b>	<b>Варибельная область легкой цепи (VL)</b>	<b>VH-VL или VL-VH scFv</b>	
			<b>Нуклеотидная</b>	<b>Аминокислотная</b>
	<b>Аминокислотная</b>	<b>Аминокислотная</b>	<b>Нуклеотидная</b>	<b>Аминокислотная</b>
BCMA-1	110	116	330	128
BCMA-2	111	117	331	129
BCMA-3	110	118	332	130
BCMA-5	110	120	334	132
BCMA-6	110	121	335	133
BCMA-9	112	124	338	136
BCMA-10	113	125	339	137
BCMA-14	248	258	343	269
BCMA-18	252	262	347	273
BCMA-19	253	263	348	274
BCMA-20	254	264	349	275
BCMA-21	255	265	350	276
BCMA-22	256	266	351	277
BCMA-23	256	267	352	278
BCMA-24	518	534		558
BCMA-25	519	535		559
BCMA-26	115	536		560

BCMA-27	520	264		561
BCMA-28	521	537		562
BCMA-29	522	538		563
BCMA-52	609	610	647	442
BCMA-55	617	618	648	478
BCMA-C1, VH-VL	324	326		585
BCMA-C1, VL-VH	324	326		328
BCMA-C2, VH-VL	325	327		329
BCMA-C2, VL-VH	325	327		586

[0619] кДНК клонов, кодирующую такой CAR, лигировали с расположенным далее по ходу транскрипции элементом проскока рибосомы (таким как кодирующая T2A последовательность SEQ ID NO: 686 или 687, кодирующая SEQ ID NO: 654), за которым следовала последовательность, кодирующая укороченный рецептор, и клонировали в лентивирусный экспрессионный вектор.

[0620] Для получения анти-BCMA CAR-экспрессирующих Т-клеток Т-клетки выделяли путем обогащения на основе иммунной аффинности из лейкоферезных образцов от людей-доноров. Выделенные Т-клетки активировали и трансдуцировали лентивирусными векторами, содержащими соответствующие полинуклеотиды, кодирующие анти-BCMA CAR. После трансдукции и размножения, CD4+ и CD8+ Т-клетки окрашивали при помощи антитела, специфического для укороченного рецептора, и при помощи флуоресцентно меченого рекомбинантного человеческого BCMA, и анализировали методом проточной цитометрии, подтверждая трансдукцию клеток и экспрессию анти-BCMA CAR.

#### **Пример 4. Оценка потенциальной гетерогенности РНК и модификация**

[0621] РНК из клеток, трансфицированных иллюстративным анти-BCMA CAR, как описано в Примере 3, анализировали на гетерогенность методом электрофореза в агарозном геле после полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР), используя праймеры, специфические для промотора и WPRE ниже по ходу транскрипции в 5' UTR и 3' UTR иллюстративных транскриптах CAR. Наблюдали несколько полос для разных конструкторов анти-BCMA CAR, содержащих иллюстративный спейсер, содержащий модифицированную область CH2-CH3-шарнир IgG (BCMA-ДС CAR) (ФИГ. 1А), что указывало на гетерогенность РНК. Меньшую гетерогенность РНК наблюдали для иллюстративного CAR, содержащего более короткий спейсер, например, содержащий часть внеклеточной области человеческого CD28 (смотри, например, BCMA-52-КС CAR).

[0622] Нуклеотидные последовательности, кодирующие различные ВСМА-ДС CAR, оценивали на потенциальные сайты сплайсинга и модифицировали консервативным образом, включая удаление потенциальных предсказанных сайтов сплайсинга. Последовательности до модификации (исходные последовательности) и последовательности после модификации (оптимизированные последовательности) анализировали для оценки присутствия потенциальных скрытых сайтов сплайсинга. Сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга оценивали независимо. Идентифицировали иллюстративные сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга в исходных последовательностях разных областей конструктора (например, в области промотора и области длинного спейсера). Идентифицировали иллюстративные сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга в области длинного спейсера после начальной кодон-оптимизации, которые имели показатель для сайта сплайсинга  $>0,7$  ( $>70\%$ ), например, донорские сайты, приведенные в SEQ ID NO: 693 (показатель сайта сплайсинга 0,96) и 708 (показатель сайта сплайсинга 0,97), соответственно. Получали модифицированные конструкторы, имеющие дополнительные модификации в областях с оцененным показателем сайта сплайсинга  $>0,7$  ( $>70\%$ ) после начальной кодон-оптимизации (смотри, например, SEQ ID NO: 855 для иллюстративной первоначальной кодон-оптимизированной последовательности спейсера), с целью уменьшения вероятности наличия нежелательных сайтов сплайсинга. В число таких областей, дополнительно модифицированных после кодон-оптимизации/элиминации сайтов сплайсинга, входили участки последовательности в области длинного спейсера, например, окончательно оптимизированные последовательности с удаленными сайтами сплайсинга (O/ЭСС), сайтами донора сплайсинга и сайтами акцептора сплайсинга, приведены в SEQ ID NO: 662 и 672, соответственно.

[0623] Модифицированные последовательности конструировали и тестировали на гетерогенность РНК, как описано выше. Результаты электрофореза подтвердили уменьшение гетерогенности РНК. Анализ конструкторов ВСМА-CAR до и после элиминации сайтов сплайсинга продемонстрировал сниженную гетерогенность РНК (ФИГ. 1B). Были получены иллюстративные конструкторы O/ЭСС CAR, имеющие модификации области длинного спейсера, например, ВСМА-23-ДС-O/ЭСС CAR, ВСМА-25-ДС-O/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-O/ЭСС CAR, ВСМА-52-ДС-O/ЭСС CAR и ВСМА-55-ДС-O/ЭСС CAR.

#### **Пример 5. Оценка экспрессии и функции CAR в первичных Т-клетках**

[0624] Lentivirusные конструкторы, содержащие кодирующие анти-ВСМА CAR полинуклеотиды с исходными и оптимизированными последовательностями, соответственно, как описано в Примере 3, трансдуцировали в Т-клетки, и трансдуцированные клетки анализировали на трансдукцию (на основании экспрессии суррогатного маркера) и на экспрессию CAR на основании связывания с рекомбинантным слитым белком ВСМА-Fc методом проточной цитометрии. Больше количество, в процентах, CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток, трансдуцированных с использованием оптимизированных последовательностей, ВСМА-52-ДС-O/ЭСС CAR и ВСМА-55-ДС-

О/ЭСС CAR, экспрессировали анти-BCMA CAR на поверхности, в сравнении с клетками, трансдуцированными для экспрессии того же соответствующего CAR полинуклеотидом, имеющим исходную (не-ЭСС) последовательность. Репрезентативные данные представлены на Фиг. 2 и в Таблице E5 ниже.

<b>Таблица E5. Процентная доля CD4+ и CD8+ Т-клеток, экспрессирующих анти-BCMA CAR</b>						
	<b>BCMA-25</b>	<b>BCMA-25-О/ЭСС</b>	<b>BCMA-52</b>	<b>BCMA-52-О/ЭСС</b>	<b>BCMA-55</b>	<b>BCMA-55-О/ЭСС</b>
CD4+ Т-клетки	17,9	64,9	36,4	69,6	44,1	50,2
CD8+ Т-клетки	17,7	61,7	31,8	62,4	36,5	43,4

[0625] Различные объемы вирусных препаратов, содержащих лентивирусные векторы, кодирующие конструкции CAR, BCMA-23-ДС CAR, BCMA 26-ДС CAR, BCMA 55-ДС CAR и BCMA 55-ДС-О/ЭСС CAR, использовали для трансдукции 500000 полученных от донора первичных человеческих Т-клеток, и эффективность трансдукции сравнивали. Трансдукция, в процентном выражении, Т-клеток увеличивалась после трансдукции оптимизированными последовательностями (ФИГ. 3, кружки) в сравнении с исходными последовательностями (ФИГ. 3, треугольники).

#### **Пример 6. Характеристика BCMA-52 и BCMA-55 scFv**

##### **А. Иммуногистохимическое окрашивание тканей**

[0626] Клетки и ткани, экспрессирующие на разных уровнях BCMA, оценивали иммуногистохимическими методами на связывание с иллюстративными анти-BCMA антителами. Связывающие домены (scFv) иллюстративных нацеленных на BCMA человека CAR, которые были слиты с пептидом Fc-области мышинового IgG1, оценивали на связывание клеток и тканей иммуногистохимическими методами.

##### **В. Оценка кинетики связывания**

[0627] Проводили экспрессию CAR с полученным из BCMA-55 связывающим доменом scFv, модифицированным полученным из области CH2-CH3-шарнира IgG спейсером, трансмембранным доменом CD28, а также эндодоменом 41BB и CD3-дзета, в Т-клетках линии Jurkat. Кинетику связывания CAR с рекомбинантным человеческим BCMA-hFc (rhBCMA hFc) оценивали с использованием анализа кинетического исключения. Аффинность связывания Fc-слитого белка, содержащего фрагмент scFv CAR (scFv-Fc), с рекомбинантным слитым белком человеческого BCMA также оценивали в анализе Biacore. В этих исследованиях значение  $K_D$  для связывания CAR и слитым белком scFv-Fc, соответственно, составляло примерно 1 нМ и 10 нМ.

[0628] В следующем эксперименте клетки Jurkat трансдуцировали полинуклеотидом, кодирующим CAR с полученным из BCMA-55 связывающим доменом scFv, и культивировали до плотности  $\sim 2 \times 10^6$ . Клетки собирали и центрифугировали при

1500 g в течение 15 минут при 4°C. Осадок клеток промывали, клетки ресуспендировали и серийно разбавляли в 20 нМ или 1 нМ растворе биотинилированного rhBCMA hFc (в данном анализе также называемого постоянным связывающим партнером (ПСП)). После уравнивания клетки осаждали центрифугированием, и супернатанты собирали для анализа кинетического исключения KinEхa. Вкратце, супернатанты от уравновешенных BCMA-55-ДС CAR О/ЭСС-экспрессирующих клеток Jurkat, содержащих rhBCMA hFc, пропускали в потоке над проточной ячейкой со стрептавидиновыми гранулами для захвата свободных биотинилированных rhBCMA hFc. Затем rhBCMA обнаруживали с использованием вторичного анти-hBCMA антитела, которое было флуоресцентно меченом. Поглощение обнаруженного rhBCMA hFc регистрировали для каждого образца и строили график относительно количества клеток в каждом разведении (Darling (2004) Assay Drug. Dev., 2:647-657). В данном исследовании определенная величина  $K_D$  для взаимодействия связывания BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующих клеток с rhBCMA hFc составляла примерно 1,46 нМ, и определенный уровень экспрессии (УЭ) составлял примерно 146500 CAR на CAR-экспрессирующую клетку Jurkat.

### **С. Избирательность BCMA-55 scFv-Fc**

[0629] Мембранный протеомный матричный (МПМ) анализ использовали для оценки специфичности связывания полученного из BCMA-55 связывающего домена с использованием слитого белка scFv-Fc. Взаимодействие BCMA-55-Fc с клетками HEK293, экспрессирующими более 4400 уникальных человеческих внеклеточных белков, представляющих более 85% внеклеточного протеома человека, и флуоресцентный белок оценивали с использованием платформы Retrogenix™. Флуоресцентный белок обнаруживали для подтверждения трансфекции, и CTLA4-Fc (тестируемый при 0,2 мкг/мл), содержащий совпадающую Fc, также использовали для скрининга CD86 в качестве положительного контроля. Первичный скрининг включал анализ связывания scFv для BCMA-55-scFv с полной панелью белков. Затем проводили последующий подтверждающий скрининг, повторно тестируя взаимодействие BCMA-55-Fc с подмножеством потенциальных хитов, идентифицированных при первичном скрининге. В данном анализе BCMA был идентифицирован как единственный сильный, специфический хит, это соответствует тому факту, что связывающий домен является высоко избирательным для BCMA в сравнении с другими внеклеточными белками. Некоторый сигнал на низком уровне был обнаружен для катепсина G (CTSG), однако, как установлено, он не вызывал функциональную активность (смотри Пример 16).

### **Пример 7. *In vitro* функциональная оценка Т-клеток, генетически модифицированных для экспрессии различных анти-BCMA химерных антигенных рецепторов (CAR)**

[0630] Генетически модифицированные человеческие Т-клетки, экспрессирующие различные иллюстративные анти-BCMA CAR, оценивали *in vitro* после совместного культивирования с BCMA-экспрессирующими клетками-мишенями. Т-клетки были трансдуцированы BCMA-52-ДС CAR, BCMA-55-ДС CAR, BCMA-52-ДС-О/ЭСС CAR или

BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR. Результаты сравнивали с результатами для эталонных анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток в качестве положительного контроля или имитационно обработанными клетками в качестве отрицательного контроля.

#### **А. Цитолитическая активность в отношении клеток-мишеней**

[0631] BCMA-экспрессирующие клетки-мишени инкубировали с Т-клетками, экспрессирующими BCMA-52-ДС CAR, BCMA-55-ДС CAR или эталонный анти-BCMA CAR, при соотношении эффектора и мишени (Э:М), составляющем 5:1, 2,5:1, 1,25:1 и 0,65:1. В качестве контроля клетки-мишени инкубировали с Т-клетками, не экспрессирующими CAR (имитационный контроль). В частности, BCMA-трансдуцированные клетки K562 (K562/BCMA, BCMA<sup>high</sup>) или клетки RPMI 8226 (BCMA<sup>low</sup> человеческие линейные клетки множественной миеломы) использовали в качестве мишеней для лизиса. Клетки-мишени метили NucLight Red (NLR) для возможности отслеживания клеток-мишеней под микроскопом. Цитолитическую активность оценивали путем измерения потери жизнеспособных клеток-мишеней в течение периода времени от 24 до 72 часов, что определяли на основании красного флуоресцентного сигнала (с использованием системы анализа живых клеток IncuCyte<sup>®</sup>, Essen Bioscience). Лизис, в процентах (лизис, %) нормировали на лизис, имеющий место в случае клеток-мишеней, инкубированных с имитационно обработанными Т-клетками. Как показано на ФИГ. 4А, анти-BCMA CAR-экспрессирующие Т-клетки проявляли антиген-специфическую цитолитическую активность в отношении BCMA<sup>+</sup> клеток. Масштабы лизиса клеток отличались в зависимости от конкретной линии клеток и CAR.

[0632] В отдельном эксперименте цитолитическую активность тестировали с клетками-мишенями RPMI 8226 при соотношении Э:М, составляющем 3:1. Как показано на ФИГ. 4В, BCMA-52-ДС- и BCMA-55-ДС-CAR-экспрессирующие клетки демонстрировали примерно 70% лизис, при нормировании на лизис имитационно обработанными клетками, не экспрессирующими CAR, в то время как клетки, экспрессирующие CAR, содержащий эталонный связывающий домен анти-BCMA антитела, демонстрировали примерно 50% лизис. Таким образом, результаты показали, что цитолитическая активность клеток, генетически модифицированных для экспрессии BCMA-52- или BCMA-55-CAR, была аналогичной или более высокой, чем активность содержащего эталонный связывающий домен CAR.

[0633] Для сравнения цитолитической активности Т-клеток, генетически модифицированных одним и тем же CAR, закодированным не модифицированным конструктом CAR или оптимизированным конструктом CAR, Т-клетки были генетически модифицированы для экспрессии анти-BCMA CAR с использованием вирусного вектора, содержащего либо не модифицированный полинуклеотидный конструкт (BCMA-52-ДС CAR и BCMA-55-ДС CAR), либо оптимизированный полинуклеотидный конструкт (BCMA-52-ДС-О/ЭСС CAR и BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR). Цитолитическую активность генетически модифицированных клеток анализировали в основном так, как описано выше. CAR-экспрессирующие Т-клетки инкубировали с клетками-мишенями K562-BCMA, RPMI

8226, клетками MM1.S (BCMA<sup>med</sup> человеческие линейные клетки множественной миеломы) или клетками RPM2 (BCMA<sup>med</sup> человеческие линейные клетки множественной миеломы) при соотношении Э:М, составляющем 3:1. Как показано на ФИГ. 4С и ФИГ. 4D, CAR-экспрессирующие клетки, трансдуцированные конструктом КО/ЭСС CAR, проявляли большую цитолитическую активность в сравнении с клетками, трансдуцированными соответствующим не модифицированным конструктом.

#### **В. Высвобождение цитокинов**

[0634] Высвобождение цитокинов оценивали после инкубации различных анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток с антиген-экспрессирующими клетками-мишенями.

[0635] BCMA-экспрессирующие клетки-мишени, клетки K562/BCMA или RPMI 8226, инкубировали с Т-клетками, экспрессирующими BCMA-52-ДС CAR, BCMA-55-ДС CAR или содержащим эталонный связывающий домен анти-BCMA CAR при соотношении Э:М, составляющем 5:1, 2,5:1, 1,25:1 или 0,6:1. В качестве контроля клетки-мишени инкубировали с Т-клетками, не экспрессирующими CAR (имитационный контроль). Совместно культивируемые клетки инкубировали в течение примерно 24 часов, а затем супернатанты собирали для измерения содержания IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2 с использованием мультиплексного анализа на цитокины. Как показано на ФИГ. 5А, тестируемые анти-BCMA CAR-экспрессирующие Т-клетки продуцировали цитокины после стимуляции антигеном.

[0636] Для оценки антиген-зависимого продуцирования цитокинов Т-клетками, генетически модифицированными одним и тем же CAR, закодированным не модифицированным конструктом CAR или оптимизированным конструктом CAR, Т-клетки генетически модифицировали для экспрессии анти-BCMA CAR с использованием вирусного вектора, содержащего либо не модифицированный полинуклеотидный конструкт (BCMA-52-ДС CAR и BCMA-55-ДС CAR), либо оптимизированный полинуклеотидный конструкт (BCMA-52-ДС-О/ЭСС CAR и BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR). CAR-экспрессирующие Т-клетки инкубировали с клетками-мишенями K562/BCMA, RPMI 8226, MM1.S (BCMA<sup>med</sup> человеческие линейные клетки множественной миеломы) или RPM2 (BCMA<sup>med</sup> человеческие линейные клетки множественной миеломы) при соотношении Э:М, составляющем 3:1, 1,5:1, 0,75:1 и 0,375:1. Продуцирование цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2 оценивали, как описано выше. Как показано на ФИГ. 5В, CAR-экспрессирующие клетки, трансдуцированные с использованием О/ЭСС оптимизированных конструктов, демонстрировали продуцирование цитокинов на более высоких уровнях в сравнении с клетками, трансдуцированными соответствующим не модифицированным (исходным) конструктом.

#### **С. Цитолитическая активность, высвобождение цитокинов и пролиферация в ответ на мишени, экспрессирующие разные количества антигена на их поверхности**

[0637] Цитолитическую активность, высвобождение цитокинов и пролиферацию оценивали после инкубации BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующих Т-клеток с BCMA-экспрессирующими клетками, экспрессирующими разные количества BCMA. Всю

активность оценивали в присутствии или в отсутствие растворимого ВСМА.

[0638] CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> первичные Т-клетки в соотношении 1:1, полученные от двух людей-доноров (Д №1 и Д №2), стимулировали CD3/CD28 гранулами и трансдуцировали лентивирусным вектором для стабильной экспрессии ВСМА-55 CAR. Трансдуцированные клетки культивировали в присутствии ВСМА-экспрессирующих клеток-мишеней при соотношении Э:М, составляющем 1:3, 1:1 или 3:1. Имитационно обработанные Т-клетки от тех же доноров также смешивали с клетками-мишенями для использования в качестве контроля. ВСМА<sup>+</sup> клетки-мишени, Daudi, RPMI-8226 и K562-ВСМА, отличающиеся разными уровнями плотности антигена ВСМА на поверхности (плотность антигена: Daudi (<1000 молекул ВСМА/клетку) < RPMI-8226 < K562-ВСМА), окрашивали сложным эфиром карбоксифлуоресцеин сукцинимидила (CFSE) перед инкубацией с Т-клетками. Равное количество отрицательных по мишени клеток, не экспрессирующих ВСМА и окрашенных красителем CellTrace™ Violet (CTV), также включали в культуры с Т-клетками и ВСМА<sup>+</sup> клетками-мишенями. После 24-часовой инкубации количество оставшихся ВСМА<sup>+</sup>, в сравнении с ВСМА<sup>-</sup>, клеток-мишеней определяли методом проточной цитометрии, и оценивали степень лизиса клеток-мишеней, являющийся показателем цитотоксичности.

[0639] ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR Т-клетки проявляли сходную цитолитическую активность при культивировании с клетками-мишенями, независимо от уровней экспрессии ВСМА (ФИГ. 6). Кроме того, аналогичные результаты были получены для клеток-мишеней (NCI-H929), экспрессирующих более 100000 молекул на клетку. Имитационно обработанные Т-клетки не проявляли активность в отношении каких-либо из ВСМА<sup>+</sup> линейных клеток-мишеней. Клетки-мишени, отрицательные по экспрессии ВСМА, не были лизированы ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR Т-клетками ни от одного из протестированных доноров (данные не представлены).

[0640] Супернатанты после инкубации анализировали на накопление цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2. Данные соответствовали выводу о том, что ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR Т-клетки высвобождают спектр цитокинов после связывания с ВСМА-экспрессирующими клетками-мишенями; при этом уровень высвобождаемых цитокинов, как правило, соответствует возрастающему уровню антигена (то есть, Daudi < RPMI 8226 < K562-ВСМА). Результаты для IFN- $\gamma$  показаны на ФИГ. 7; аналогичные результаты были получены для TNF- $\alpha$  и IL-2 (данные не представлены). ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR Т-клетки не высвобождали цитокины в ответ на ВСМА-отрицательные мишени, и не экспрессировали цитокины в отсутствие клеток-мишеней, это указывает на специфичность для ВСМА<sup>+</sup> клеток-мишеней и отсутствие тонической сигнализации.

[0641] Оценивали активность ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующих Т-клеток в присутствии или в отсутствие растворимого ВСМА. ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующие Т-клетки совместно культивировали с опухолевыми клетками RPMI-8226, с рекомбинантным ВСМА-Fc или с супернатантом клеточной культуры, полученным с клеток NCI-H929 множественной миеломы (ВСМА-секретирующая линия клеток, супернатант содержит растворимый ВСМА). Как установлено, ни на лизис опухолевых

клеток, ни на продуцирование цитокинов не влияет продуцируемый NCI-H929 растворимый ВСМА ни в одной из концентраций (вплоть до 1000 нг/мл). Как лизис опухолевых клеток, так и продуцирование цитокинов, лишь минимально уменьшались при аналогично высоких физиологических уровнях рекомбинантного ВСМА.

[0642] Пролиферацию в ответ на ВСМА определяли для ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующих Т-клеток и имитационно обработанных Т-клеток. Трансдуцированные Т-клетки метили красителем CellTrace™ Violet (CTV) и культивировали в присутствии ВСМА-положительных клеток-мишеней, ВСМА-отрицательных клеток-мишеней, или без клеток, при соотношении эффектора и мишени (Э:М), составляющем 1:1, в течение 72 часов. Пролиферацию определяли методом проточной цитометрии. Пролиферацию Т-клеток (CD4+ и CD8+ Т-клеток) наблюдали только в случае ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующих Т-клеток в ответ на инкубацию с ВСМА-положительными клетками-мишенями.

#### **Д. Трансдуцированные Т-клетки, полученные от здоровых доноров и пациентов с миеломой**

[0643] Т-клетки, генетически модифицированные для экспрессии ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, полученные от пациентов с множественной миеломой, сравнивали с клетками, полученными от здоровых людей-доноров, после 24-часовой инкубации с ВСМА+ и ВСМА- клетками-мишенями K562. Т-клетки, не экспрессирующие CAR, также оценивали в качестве отрицательного контроля. CAR Т-клетки, полученные от пациентов с множественной миеломой, демонстрировали на аналогичных уровнях экспрессию, размножение и антиген-специфическую активность в сравнении с экспрессирующими CAR клетками, полученными от здоровых людей-доноров.

#### **Пример 8. Анти-ВСМА CAR с разными спейсерами**

[0644] Получали полинуклеотидные конструкторы, кодирующие анти-ВСМА CAR, содержащие разные области спейсера между scFv и трансмембранным сегментом закодированного полипептида CAR. В частности, получали CAR, содержащий: (1) спейсер, полученный из шарнирной области IgG (например, ВСМА-5-КС, ВСМА-9-КС, ВСМА-18-КС, ВСМА-23-КС, ВСМА-25-КС, ВСМА-26-КС, ВСМА-52-КС, ВСМА-55-КС и эталон 1 (VH/VL)-КС); или (2) короткий спейсер, полученный из эктодомена CD28 (например, ВСМА-52-К-CD28 и ВСМА-55-К-CD28). Т-клетки, экспрессирующие содержащие такие спейсеры CAR, сравнивали с Т-клетками, трансдуцированными полинуклеотидными конструкторами, кодирующими иллюстративный CAR, содержащий спейсеры, описанные в Примере 3 (например, ВСМА-1-ДС, ВСМА-5-ДС, ВСМА-9-ДС, ВСМА-18-ДС, ВСМА-23-ДС, ВСМА-25-ДС, ВСМА-26-ДС, ВСМА-27-ДС, ВСМА-52-ДС, ВСМА-55-ДС и эталон 1 (VH/VL)-ДС).

[0645] CAR-экспрессирующие клетки оценивали в отношении цитолитической активности путем мониторинга лизиса человеческих клеток-мишеней OPM2 множественной миеломы, культивируемых с CAR-экспрессирующими Т-клетками при соотношении эффектора и мишени (Э:М), составляющем 1,25:1 и 0,65:1. Клетки, не

экспрессирующие CAR (имитацию), использовали в качестве отрицательного контроля. Цитолитическую активность оценивали, как описано в Примере 7. Для большинства оцениваемых CAR-экспрессирующих клеток лизис клеток-мишеней был больше в случае клеток, генетически модифицированных для экспрессии CAR, содержащего спейсер СН2-СН3-шарнир, в сравнении с клетками, генетически модифицированными CAR, содержащим более короткий спейсер (ФИГ. 8).

### **Пример 9. Оценка влияния средств на блокирующую активность анти-BCMA CAR**

[0646] Функцию анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток оценивали после инкубации с BCMA-экспрессирующими клетками-мишенями и растворимым BCMA или другими белками. Цитолитическую активность и продуцирование цитокинов оценивали, в основном, как описано в Примере 7.

#### **А. Цитолитическая активность**

##### ***1. Растворимый рекомбинантный BCMA (rBCMA) - клетки-мишени OPM2***

[0647] Анти-BCMA CAR-экспрессирующие Т-клетки с BCMA-52-ДС CAR, BCMA-55-ДС CAR или содержащим эталонный связывающий домен CAR инкубировали с клетками-мишенями OPM2 при соотношении Э:М, составляющем 5:1, в присутствии растворимого BCMA-Fc в концентрации 0, 0,3, 3, 30 или 300 нг/мл. Как показано на ФИГ. 9А, цитолитическая активность Т-клеток, экспрессирующих содержащий эталонный связывающий домен CAR или BCMA-52-ДС CAR, была значительно снижена в присутствии 3 нг/мл или более BCMA-Fc, однако цитолитическая активность клеток, экспрессирующих BCMA-55-ДС CAR, не была блокирована в присутствии вплоть до 300 нг/мл BCMA-Fc.

[0648] В другом эксперименте анти-BCMA CAR-экспрессирующие Т-клетки (BCMA-1-ДС CAR, BCMA-9-ДС CAR, BCMA-23-ДС CAR, BCMA-25-ДС CAR, BCMA-26-ДС CAR, BCMA-55-ДС CAR и эталон 1 (VH/VL)-ДС CAR) инкубировали с клетками-мишенями OPM2 при соотношении Э:М, составляющем 5:1, в присутствии растворимого BCMA-Fc в концентрации 0, 7,8, 15,6, 31,3, 62,5, 125, 250, 500 и 1000 нг/мл. Как показано на ФИГ. 9В, цитолитическая активность клеток, экспрессирующих BCMA-55-CAR, не была блокирована в присутствии BCMA-Fc ни в одной из протестированных концентраций; однако в присутствии BCMA-Fc в разных концентрациях в разной степени была блокирована активность клеток, экспрессирующих другие анти-BCMA CAR.

##### ***2. Супернатант линейных клеток множественной миеломы (H929) -клетки-мишени OPM2***

[0649] Экспрессирующие оптимизированные, с удаленными сайтами сплайсинга (О/ЭСС), анти-BCMA CAR Т-клетки с BCMA-52-ДС-О/ЭСС CAR, BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR или содержащим эталонный связывающий домен CAR инкубировали с клетками-мишенями OPM2 при соотношении Э:М, составляющем 5:1, в присутствии культурального супернатанта от линейных клеток H929 множественной миеломы в концентрации 0, 111, 333 и 1000 нг/мл. Концентрация растворимого BCMA в супернатанте H929 была

количественно определена методом ELISA. Как показано на ФИГ. 10А, цитолитическая активность клеток, экспрессирующих ВСМА-52-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR или эталонный CAR, не была блокирована в присутствии супернатанта Н929.

### **3. Растворимый рекомбинантный ВСМА (rBCMA) и супернатант Н929 - клетки-мишени RPMI-8226**

[0650] В следующем исследовании экспрессирующие оптимизированные, с удаленными сайтами сплайсинга (О/ЭСС), ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR Т-клетки инкубировали с опухолевыми клетками-мишенями RPMI-8226 при соотношении Э:М, составляющем 3:1, в присутствии растворимого ВСМА из культурального супернатанта от линейных клеток Н929 множественной миеломы в концентрации 0, 111, 333 и 1000 нг/мл (количество растворимого ВСМА определяли методом ELISA) или ВСМА-Fc. Цитолитическая активность клеток, экспрессирующих ВСМА-52-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR или эталонный CAR, не была блокирована в присутствии супернатанта Н929.

### **4. Фактор, активирующий В-клетки (BAFF)**

[0651] Экспрессирующие оптимизированные, с удаленными сайтами сплайсинга (О/ЭСС), анти-ВСМА CAR Т-клетки с ВСМА-52-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR или эталонным CAR инкубировали с клетками-мишенями OPM2 при соотношении Э:М, составляющем 5:1, в присутствии рекомбинантного фактора, активирующего В-клетки (BAFF), лиганда ВСМА, в концентрации 0, 1, 10, 100 и 1000 нг/мл. Как показано на ФИГ. 10В, цитолитическая активность Т-клеток, экспрессирующих ВСМА-52-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR или эталонный CAR, не была блокирована в присутствии BAFF.

## **В. Высвобождение цитокинов**

### **1. ВСМА-Fc**

[0652] Анти-ВСМА CAR-экспрессирующие Т-клетки с ВСМА-52-ДС CAR, ВСМА-55-ДС CAR или эталон-ДС CAR инкубировали с клетками-мишенями OPM2 при соотношении Э:М, составляющем 5:1, в присутствии растворимого ВСМА-Fc в концентрации 0, 111, 333 и 1000 нг/мл. Также оценивали Т-клетки, не экспрессирующие CAR (имитация). Оценивали накопление цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-2 в супернатанте. Как показано на ФИГ. 11А, накопление цитокинов в культурах, содержащих Т-клетки, экспрессирующие эталонный CAR или ВСМА-52-CAR, существенно не уменьшалось в присутствии 111 нг/мл, или более, ВСМА-Fc, однако меньшее уменьшение накопления цитокинов наблюдали в культурах, содержащих Т-клетки, экспрессирующие ВСМА-55-CAR, в присутствии растворимого ВСМА-Fc при всех протестированных концентрациях.

### **2. Супернатант линейных клеток множественной миеломы (Н929)**

[0653] Анти-ВСМА CAR-экспрессирующие Т-клетки с ВСМА-52-ДС CAR, ВСМА-55-ДС CAR или эталон-ДС CAR инкубировали с клетками-мишенями OPM2 при соотношении Э:М, составляющем 5:1, в присутствии культурального супернатанта от линейных клеток Н929 множественной миеломы в концентрации 0, 111, 333 и 1000 нг/мл.

Накопление цитокинов в культурах, содержащих Т-клетки, экспрессирующие ВСМА-52-CAR, ВСМА-55-CAR или эталонный CAR, не было блокировано в присутствии супернатанта H929 (ФИГ. 11В).

**Пример 10. Противоопухолевый эффект анти-ВСМА CAR-экспрессирующих Т-клеток после адоптивного переноса *in vivo* в животной модели**

[0654] Противоопухолевые эффекты иллюстративных генетически модифицированных анти-ВСМА CAR-экспрессирующих первичных человеческих Т-клеток оценивали путем мониторинга опухолей после адоптивного переноса клеток в животных моделях опухолей, включая мышиную модель ксенотрансплантата множественной миеломы OPM2 человека (ортотопическая модель в костном мозге) и мышиную модель ксенотрансплантата множественной миеломы RPMI 8226 человека (модель подкожного имплантата).

**А. OPM2 (ортотопическая/костный мозг) модель**

[0655] Мышам NOD.Cg.Prkdc<sup>scid</sup>IL2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ (NSG) вводили внутривенной (в/в) инъекцией  $2 \times 10^6$  клеток OPM2 (множественная миелома), трансфицированных люциферазой светляков (OPM2-ffluc). В день 14 после приживления опухоли мыши получали одну внутривенную (в/в) инъекцию анти-ВСМА CAR Т-клеток, экспрессирующих оптимизированные, с удаленными сайтами сплайсинга (О/ЭСС), ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR или ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR. Анти-ВСМА CAR-экспрессирующие Т-клетки вводили в дозе либо  $1 \times 10^6$  (низкая доза, n=8), либо  $3 \times 10^6$  (высокая доза, n=8) CAR-экспрессирующих Т-клеток на мышь, и каждый вариант повторяли для CAR-экспрессирующих Т-клеток, полученных от двух разных доноров. В качестве контроля мышам вводили клетки, не экспрессирующие CAR (имитация, n=8), или животные не получали лечение (n=3). Выживаемость и опухолевую нагрузку оценивали в течение 90 дней.

[0656] Противоопухолевую активность адоптивно перенесенных CAR-экспрессирующих (CAR-T) клеток оценивали путем биолюминесцентной визуализации каждые 3-6 дней после введения CAR-T-клеток на всем протяжении исследования. Для биолюминесцентной визуализации мышам вводили внутрибрюшинной (в/б) инъекцией субстрат люциферин (CaliperLife Sciences, Hopkinton, MA), суспендированный в PBS (15 мкг/г массы тела). Мышей анестезировали, и визуализацию проводили, в основном, как описано в WO2015/095895. Общий поток (фотоны/с) определяли в каждый момент времени. В случае мышей, служащих отрицательным контролем без лечения, животных умерщвляли в дни 19-23 дней после введения CAR-T-клеток из-за высокой опухолевой нагрузки. Репрезентативные результаты для CAR-экспрессирующих Т-клеток от одного донора представлены на ФИГ. 12А.

[0657] Как показано на ФИГ. 12А для всех экспериментальных мышей, опухоль у мышей, получавших имитационно обработанные Т-клетки, или не получавших Т-клетки, продолжала расти в течение всего исследования. В сравнении с контрольными мышами мыши, получавшие адоптивно перенесенные Т-клетки, генетически модифицированные

для экспрессии ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR или ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, как правило, имели более низкий уровень биолюминесцентного сигнала, что свидетельствовало об уменьшении роста опухоли с течением времени и/или о более низкой степени опухолевого роста у получавших лечение животных. Эффект на рост опухолей был выше при использовании более высокой дозы анти-ВСМА CAR-экспрессирующих клеток с иллюстративными тестируемыми анти-ВСМА CAR.

[0658] Выживаемость мышей, получавших препараты, описанные выше, оценивали и сравнивали до дня 79 после инфузии CAR-экспрессирующих Т-клеток. Репрезентативные кривые выживаемости, построенные методом Каплана-Мейера (GraphPad Prism 7.0, GraphPad Software, La Jolla) при использовании клеток от одного донора представлены на ФИГ. 12В. Как показано, тестируемые анти-ВСМА CAR-Т-клетки в низкой и высокой дозе приводили к более высокому проценту выживаемости мышей в сравнении с мышами, не получавшими лечение, или получавшими имитационно обработанные Т-клетки. Мышей также оценивали на проявление клинических признаков, связанных с опухолевой нагрузкой, включая паралич задних конечностей (HLP), потерю более 20% массы тела (>20% BWL) и реакцию трансплантат против хозяина (GVHD). Число мышей с этими клиническими признаками было меньшим в сравнении с мышами, не получавшими лечение или получавшими имитационные Т-клетки.

#### **В. RPMI-8226 (подкожная) модель**

[0659] Мышам NOD.Cg.PrkdcscidIL2rgtm1Wjl/SzJ (NSG) вводили подкожной инъекцией клетки RPMI 8226 (плазмацитома периферической крови). В день 27 мышей рандомизировали в группы на основании минимального среднего объема опухоли примерно 130 мм<sup>3</sup>. В день 29 мыши получали одну внутривенную (в/в) инъекцию первичных человеческих Т-клеток (CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>), генетически модифицированных для экспрессии оптимизированных, с удаленными сайтами сплайсинга (О/ЭСС), ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR или ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR в дозе 1×10<sup>6</sup> (низкая доза, n=8) или 3×10<sup>6</sup> (высокая доза, n=8) CAR-экспрессирующих Т-клеток. Каждый вариант повторяли для CAR-экспрессирующих Т-клеток, полученных от двух разных доноров. Мышей, которым вводили имитационно обработанные клетки, и не получавших лечение мышей использовали в качестве отрицательных контролей. Объем опухоли измеряли штангенциркулем два раза в неделю до дня 152 после переноса CAR Т-клеток, и умерщвляли животных в предсмертном состоянии, потерявших 20% массы тела, или когда объем опухоли превышал 1500 мм<sup>3</sup>. Кривые выживаемости строили до дня 108 после переноса CAR Т-клеток с использованием метода Каплана-Мейера (GraphPad Prism 7.0, GraphPad).

[0660] Репрезентативные результаты для роста опухолей и выживаемости в случае использования CAR-экспрессирующих Т-клеток, полученных от одного донора, показаны на ФИГ. 13А и 13В, соответственно. Как показано на ФИГ. 13А, опухоль продолжала расти в течение всего исследования после адоптивного переноса клеток, служащих отрицательным контролем, или у мышей, не получавших лечение. В сравнении с

контрольными мышами у мышей, получавших адоптивно перенесенные Т-клетки, генетически модифицированные для экспрессии ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR или ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, наблюдали значительно уменьшенный объем опухоли после получения ими низкой или высокой дозы CAR-экспрессирующих Т-клеток (ФИГ. 13А). В данной модели у мышей, которым вводили обе тестируемые дозы анти-ВСМА CAR Т-клеток, наблюдалась полная регрессия опухолевого роста через 20 дней после переноса CAR Т-клеток, что продолжалось в течение всего исследования, результаты оценки представлены на ФИГ. 13А.

[0661] Выживаемость, в процентах, мышей, которым вводили анти-ВСМА CAR-экспрессирующие Т-клетки, также была значительно выше, чем в контрольных группах (ФИГ. 13В). Через 108 дней после инфузии CAR Т-клеток два животных погибли после элиминации опухоли в группе, получавшей высокую дозу ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующих Т-клеток, хотя, по всей вероятности, это произошло вследствие симптомов реакции трансплантат против хозяина (GVHD) в данной модели. Все другие получавшие CAR-Т-клетки мыши оставались живы вплоть до 108 дней после введения CAR Т-клеток.

[0662] Присутствие CAR<sup>+</sup> Т-клеток в крови контролировали для оценки фармакокинетики CAR-экспрессирующих Т-клеток у мышей, получавших лечение. 8 мышей в каждой группе лечения делили на 2 группы по 4 мыши. Кровь отбирали еженедельно из ретроорбитального синуса, чередуя животных в 2 группах так, чтобы у каждой мыши кровь была собрана через неделю, в течение 4 недель после введения CAR-Т-клеток (то есть, в дни 7, 14, 21 и 28 после введения CAR-Т-клеток). Собранную кровь анализировали на число CAR-экспрессирующих Т-клеток, которое определяли с использованием антитела против суррогатного маркера или растворимого ВСМА-Fc, и не-CAR Т-клеток в мкл крови методом проточной цитометрии (FlowJo software, Treestar Inc., Ashland, OR).

[0663] Число CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток в мкл крови в дни 7, 14, 21 и 28 показано на ФИГ. 14А и ФИГ. 14В, соответственно, для клеток одного донора, и на ФИГ. 15А и ФИГ. 15В, соответственно, для клеток второго донора. Как показано, размножение CAR Т-клеток имело место в группах высокой и низкой дозы у CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток, с максимумом или пиком размножения, наблюдаемым в день 14 после переноса CAR Т-клеток от обоих доноров. Во все анализируемые моменты времени после переноса CAR-Т-клеток наблюдали большее количество CD8<sup>+</sup> CAR<sup>+</sup> Т-клеток в сравнении с CD4<sup>+</sup> CAR<sup>+</sup> Т-клетками от обоих доноров (сравните ФИГ. 14А и ФИГ. 14В или ФИГ. 15А и ФИГ. 15В). Т-клетки, генетически модифицированные для экспрессии ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, демонстрировали большую экспрессию CAR в сравнении с Т-клетками, экспрессирующими конструкторы ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR и ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR, которые демонстрировали сопоставимую друг с другом экспрессию. Эти результаты показывают, что ВСМА-55-ДС CAR-экспрессирующие Т-клетки могут быть идентифицированы циркулирующими в крови в процессе элиминации опухоли.

**Пример 11. Оценка сигналов через анти-BCMA химерный антигенный рецептор (CAR) в Nur77-tdTomato репортерном сигнале в линии клеток-репортеров**

[1] Получали иллюстративную стабильную Т-клеточную линию клеток-репортеров Jurkat, содержащих нокин репортер Nur77, в которых нуклеотидные последовательности, кодирующие молекулу репортера, были введены нокином в эндогенный локус Nur77 за счет репарации путем гомологичной рекомбинации (HDR). Ядерный гормональный рецептор-сирота Nur77 (также называемый Nr4a1) представляет собой продукт немедленно-раннего гена ответа, индуцируемого активацией сигнала от Т-клеточного рецептора и/или через молекулы, содержащие иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM). Линию клеток-репортеров Nur77 использовали для оценки активации Т-клеток в генетически модифицированных CAR клетках, поскольку Nur77 является продуктом немедленно-раннего гена в Т-лимфоцитах; транскрипция инициируется конкретно после сигнализации CD3-дзета, и на нее не влияют опосредованные цитокинами или TLR сигналы. В клоне Е6-1 Т-клеток Jurkat (ATCC® TIB-152™) нуклеотидная последовательность, кодирующая красный флуоресцентный белок (RFP; такой как флуоресцентный белок tdTomato), служила мишенью для интеграции в рамке считывания с эндогенным геном *Nr4a1* (Nur77) в последнем экзоне, перед стоп-кодоном и после элемента «саморасщепления» T2A (последовательность приведена в SEQ ID NO: 686 или 687, кодирующая полипептид последовательность приведена в SEQ ID NO: 631, 653 или 654), что делало возможной совместную экспрессию RFP в качестве репортера экспрессии Nur77, путем внесения разрыва в ген методом редактирования гена и направления трансгена для интеграции в сайт рядом с разрывом за счет репарации путем гомологичной рекомбинации (HDR). Линейные клетки-репортеры Nur77-tdTomato были генетически модифицированы для экспрессии различных анти-BCMA химерных антигенных рецепторов, и была оценена экспрессия репортера.

[0664] Вирусные векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие следующие анти-BCMA химерные антигенные рецепторы (CAR), описанные в Примере 3, были введены в клетки-репортеры Nur77-tdTomato Т-клеточной линии Jurkat: BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR, BCMA-26-ДС-О/ЭСС CAR, BCMA-23-ДС-О/ЭСС CAR и BCMA-25-ДС-О/ЭСС CAR. Анти-BCMA CAR-экспрессирующие клетки-репортеры были оценены в отношении активности сигнализации Nur77 в ответ на повышение количества рекомбинантного BCMA, связанного с планшетом, или в ответ на иллюстративные клетки линии множественной миеломы после 20 часов совместного культивирования.

**А. Сигнализация Nur77 в ответ на связанный с планшетом рекомбинантный BCMA**

[0665] Клетки-репортеры, трансдуцированные вирусным вектором, кодирующим BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR, инкубировали в течение 6 часов в 96-луночных планшетах для культивирования клеток, покрытых в течение ночи слитым полипептидом BCMA-Fc (растворимый человеческий BCMA, слитый на его С-конце с Fc-областью IgG) в разных концентрациях (0,008 мкг/мл, 0,04 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, 1 мкг/мл и 5 мкг/мл).

Рекомбинантный полипептид Fc использовали в качестве контроля (Fc контроль). Как показано на ФИГ. 16А, наблюдали зависимое от дозы увеличение экспрессии tdTomato после стимуляции анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток-репортеров рекомбинантным антигеном.

[0666] В другом исследовании клетки-репортеры, генетически модифицированные для экспрессии BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR, BCMA-26-ДС-О/ЭСС CAR, BCMA-23-ДС-О/ЭСС CAR и BCMA-25-ДС-О/ЭСС CAR, инкубировали с BCMA-Fc в десяти (10) концентрациях, полученных путем 2-кратных серийных разведений. Клетки-репортеры, экспрессирующие анти-CD19 CAR, использовали в качестве нецелевого контроля. Определяли процентное содержание tdTomato-экспрессирующих клеток в популяции клеток, экспрессирующих CAR (что определяли на основании экспрессии суррогатного маркера). Как показано на ФИГ. 16В, зависимое от дозы увеличение экспрессии tdTomato наблюдали после стимуляции рекомбинантным антигеном. Никакого ответа на стимуляцию BCMA-Fc не наблюдали в случае контрольных клеток-репортеров, экспрессирующих CAR против нецелевого антигена.

#### **В. Сигнализация Nur77 в ответ на клетки линий множественной миеломы**

[0667] Клетки-репортеры, трансдуцированные вирусным вектором, кодирующим BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR, инкубировали в течение 20 часов с клетками NALM6, Daudi, RPMI-8226, MM1S, OPM2 и H929. Наблюдали разные уровни экспрессии RFP в зависимости от линии клеток, что являлось следствием стимуляции анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток-репортеров.

[0668] Для оценки уровней экспрессии BCMA на поверхности клеток линий множественной миеломы, используемых для стимуляции анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток-репортеров, клетки окрашивали антителом против BCMA человека (BioLegend, San Diego, CA), результаты получали методом проточной цитометрии на проточном цитометре LSRFortessa™ (BD Biosciences, San Jose, CA), и данные анализировали при помощи программы FlowJo (Treestar Inc., Ashland OR). Плотность антигена BCMA (AD) определяли с использованием Quantum™ Simply Cellular® микросфер с антителами против мышиных IgG, покрытых тем же антителом против BCMA человека. Микросферы метили и рассчитывали связывающую способность анти-BCMA антитела. Результаты подтверждали обнаружение параметра (поддающиеся обнаружению уровни репортера), являющегося показателем специфической активности CAR в CAR-экспрессирующих клетках-репортерах, при инкубации с каждым из следующих разных BCMA-экспрессирующих клеток, демонстрирующего диапазон разной плотности, но не при инкубации с отрицательными по мишени клетками. Степень сигнала репортера RFP, как правило, коррелировала с уровнями поверхностной экспрессии BCMA. При инкубации с клетками, у которых наблюдались более низкие уровни поверхностной экспрессии BCMA, CAR-экспрессирующие клетки-репортеры демонстрировали более низкие уровни экспрессии репортера, являющейся показателем активности. Аналогично, CAR-экспрессирующие клетки-репортеры, инкубируемые с линиями клеток, у которых

наблюдались более высокие уровни поверхностной экспрессии ВСМА, демонстрировали более высокие уровни экспрессии репортера, являющейся показателем активности. Таким образом, было установлено, что плотность экспрессии ВСМА на поверхности клеток разных линий множественной миеломы коррелирует с уровнем параметра, являющегося показателем антиген-специфической активности клеток-репортеров, экспрессирующих ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, это указывает на то, что клетки, экспрессирующие CAR, могут проявлять активность при диапазоне плотности антигена, и в некоторых аспектах могут проявлять повышенную активность при увеличении уровня антигена.

**Пример 12. Оценка сигнала репортера Nur77-tdTomato в линии клеток-репортеров, экспрессирующих анти-ВСМА химерные антигенные рецепторы (CAR), содержащие спейсеры разной длины**

[0669] Экспрессию репортера в клетках, генетически модифицированных для экспрессии анти-ВСМА CAR, содержащих один и тот же антигенсвязывающий домен, но спейсеры разной длины, определяли после совместного культивирования с клетками-мишенями. Клетки Jurkat Nur77-tdTomato, полученные, как описано в Примере 11, генетически модифицировали для экспрессии ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR (содержащего длинный спейсер, полученный из модифицированных областей шарнира-CH2-CH3 IgG, с последовательностью SEQ ID NO: 649) или ВСМА-55-КС CAR (содержащего короткий спейсер, полученный из шарнира IgG4, с последовательностью SEQ ID NO: 363). Клетки совместно культивировали с экспрессирующими ВСМА человека клетками-мишенями K562 (ВСМА-K562) при разных соотношениях Э:М. Клетки-репортеры, экспрессирующие CAR, нацеленный на другой антиген (анти-CD19 CAR), использовали в качестве контроля. Как показано на ФИГ. 17, уровень экспрессии Nur77-tdTomato отличался в случае анти-ВСМА CAR, содержащих спейсер разной длины, и наблюдался зависимый от дозы ответ на стимуляцию клетками-мишенями, экспрессирующими ВСМА.

**Пример 13. Оценка антиген-независимой (тонической) сигнализации от разных анти-ВСМА химерных антигенных рецепторов (CAR)**

[1] Клетки-репортеры Nur77-tdTomato трансдуцировали вирусным вектором, кодирующим анти-CD19 CAR (контроль), ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-26-ДС-О/ЭСС CAR, ВСМА-23-ДС-О/ЭСС CAR или ВСМА-25-ДС-О/ЭСС CAR, как описано в Примере 11, выше, за исключением того, что суррогатный маркер для трансдукции представлял собой суперсвернутый зеленый флуоресцентный белок, sfGFP. В данной модели на тоническую сигнализацию указывала экспрессия tdTomato в отсутствие стимуляции антигеном ВСМА.

[0670] Также получали вирусный вектор, кодирующий анти-ВСМА CAR, содержащий разные анти-ВСМА scFv, названный ВСМА-52-ДС-О/ЭСС CAR, и трансдуцировали в клетки-репортеры. Разные CAR-экспрессирующие клетки инкубировали без стимуляции антигеном для оценки степени антиген-независимой (тонической) сигнализации в течение 3 дней и оценивали на экспрессию tdTomato методом проточной цитометрии.

[0671] Как показано на ФИГ. 18, CAR-экспрессирующие клетки разных линий демонстрировали разную степень экспрессии tdTomato в отсутствие стимуляции антигеном. Процентное содержание tdTomato<sup>+</sup> клеток (показатель тонической активации репортера) среди CAR-экспрессирующих клеток (то есть, GFP<sup>+</sup> клеток) варьировалось от 0,23% до 19,3% в клетках, экспрессирующих разные CAR.

**Пример 14. Оценка антиген-независимой (тонической) сигнализации от анти-BCMA химерных антигенных рецепторов (CAR), содержащих разные внутриклеточные домены**

[0672] Антиген-независимую (тоническую) сигнализацию оценивали в клетках-репортерах, экспрессирующих разные CAR, содержащие разные внутриклеточные сигнальные области. Клетки-репортеры Nur77-tdTomato трансдуцировали вирусным вектором, кодирующим анти-CD19 CAR, BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR, BCMA-26-ДС-О/ЭСС CAR, BCMA-23-ДС-О/ЭСС CAR или BCMA-52-ДС-О/ЭСС CAR, полученные, в целом, как описано в Примерах 11 и 13, за тем исключением, что CAR содержали внутриклеточные домены, полученные из 4-1BB или CD28, и суррогатным маркером для трансдукции служил укороченный рецептор. Разные CAR-экспрессирующие клетки инкубировали без стимуляции антигеном для оценки степени антиген-независимой (тонической) сигнализации и оценивали на экспрессию tdTomato методом проточной цитометрии.

[0673] Как показано на ФИГ. 19А и ФИГ. 19В, полученные из 4-1BB и CD28 внутриклеточные домены в разных CAR приводили к разным уровням тонической сигнализации, о чем свидетельствовало процентное содержание tdTomato<sup>+</sup> клеток среди CAR<sup>+</sup> клеток (определенных на основании экспрессии суррогатного маркера).

**Пример 15. Оценка антигенной перекрестной реактивности анти-BCMA химерных антигенных рецепторов (CAR) с использованием линии клеток-репортеров**

[0674] Клетки линии Nur77-tdTomato, генетически модифицированные для экспрессии BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR, специфического для BCMA человека, и полученные, в целом, как описано в Примере 11, использовали для оценки видовой перекрестной реактивности антигенсвязывающих доменов CAR. Линейные клетки-репортеры, экспрессирующие BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR, совместно культивировали с клетками K562 человеческого миелогенного лейкоза, экспрессирующими BCMA человека (huBCMA), BCMA мыши (muBCMA) или BCMA яванского макака (cynoBCMA), при соотношении Э:М, составляющем 2:1 или 5:1. Процентное содержание tdTomato<sup>+</sup> клеток определяли методом проточной цитометрии.

[0675] Как показано на ФИГ. 20А, более 90% BCMA-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующих клеток были tdTomato<sup>+</sup> при культивировании с клетками-мишенями, экспрессирующими huBCMA, при обоих протестированных соотношениях Э:М. Для сравнения, при культивировании с клетками-мишенями, экспрессирующими muBCMA, очень мало клеток были tdTomato<sup>+</sup>, это указывало на очень низкую перекрестную реактивность. При культивировании с клетками-мишенями, экспрессирующими cynoBCMA, примерно 10-20% клеток были tdTomato<sup>+</sup>, это указывало на некоторую степень

перекрестной реактивности с суноВСМА.

[0676] Линейные клетки-репортеры, экспрессирующие ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, инкубировали с huВСМА и суноВСМА в возрастающих концентрациях (0, 0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 и 100 мкг/мл), нанесенными на 96-луночные плоскодонные планшеты. Определяли процентное содержание tdTomato+ клеток и среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ) сигнала tdTomato в CAR+ клетках.

[0677] Как показано на ФИГ. 20В и 20С, суноВСМА не реагировал перекрестно с ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR при низких концентрациях, но реагировал при высоких концентрациях.

**Пример 16. Оценка антигенной специфичности анти-ВСМА химерных антигенных рецепторов (CAR) с использованием линии клеток-репортеров**

[0678] Антигенную специфичность для активации ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующих клеток тестировали путем сравнения активации клеток-репортеров Jurkat Nur77 в ответ на ВСМА-экспрессирующие клетки-мишени MM1S и на клетки-мишени K562, генетически модифицированные для экспрессии не-ВСМА белка, который, как показано, узнается на низких уровнях ВСМА-55-scFv Fc в Примере 5С, катепсина G (CTSG). В качестве отрицательного контроля также оценивали родительские клетки K542. Вкратце, клетки-репортеры Nur77, трансдуцированные вирусным вектором, кодирующим ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR, инкубировали в течение 24 часов с клетками-мишенями, перечисленными выше, при соотношениях эффектор:клетка-мишень, составляющих 5:1, 1:1 и 1:5, и активацию определяли путем измерения процентного содержания клеток, экспрессирующих RFP (RFP+), методом проточной цитометрии. Результаты показали, что ВСМА-55-ДС-О/ЭСС CAR-экспрессирующие клетки активировались ВСМА-экспрессирующими клетками MM1S, но не отрицательными по ВСМА клетками-мишенями (родительскими или клетками, экспрессирующими не-ВСМА антиген, CTSG).

**Пример 17. Определение связывающего эпитопа для ВСМА-52 и ВСМА-55 scFv**

[0679] Эпитопы, узнаваемые, например, специфически связываемые, иллюстративными клонами анти-ВСМА scFv (ВСМА-1, ВСМА-5, ВСМА-9, ВСМА-23, ВСМА-25, ВСМА-26, ВСМА-52 и ВСМА-55 анти-ВСМА scFv), оценивали с использованием полного прерывистого картирования эпитопов путем химического связывания пептидов на каркасах (CLIPS; Pepscan Presto BV, Lelystad, The Netherlands; смотри, например, Timmerman *et al.*, (2007) *J. Mol. Recognit.* 20: 283-329). Картирование проводили с использованием клонов анти-ВСМА scFv, например, тех, которые слиты с мышью Fc-областью (scFv-mFc).

[0680] Создавали библиотеки линейных и конформационных пептидов из аминокислотных остатков 1-54 человеческого ВСМА (приведенных в качестве аминокислотных остатков 1-54 в SEQ ID NO: 367), используя комбинаторный матричный дизайн. Использовали линейные пептиды и структурные миметики, включая одну петлю,  $\alpha$ -спираль,  $\beta$ -поворот, комбинаторные и линейные миметики дисульфидных мостов и миметики прерывистых эпитопов, наряду с пептидами положительного и отрицательного

контроля, на твердой подложке, функционализированной аминокетонами.

[0681] Показатели аффинности связывания с пептидами в эпитопной библиотеке определяли методом ELISA. Пептидные матрицы инкубировали с раствором, содержащим scFv, в течение ночи при 4°C. Информацию об аффинности использовали для итеративного скрининга с целью определения последовательности и конформации эпитопов. Создавали тепловые карты информации по аффинности для двух или более петель.

[0682] Как показано, оцениваемые scFv узнавали конформационные эпитопы, которые включали несколько прерывистых пептидных участков на пептидной последовательности BCMA. Установлено, что BCMA-1, BCMA-5, BCMA-23 и BCMA-25 scFv связывают пептид  ${}_{30}\text{SNTPLTCQR}_{39}$  (приведен в SEQ ID NO: 379), который мог быть узнан в линейной форме. В некоторых аспектах такие антитела узнают нелинейный или линейный эпитоп, включающий остатки такого пептида с SEQ ID NO: 379, и в некоторых аспектах узнают нелинейный эпитоп, дополнительно включающий остатки  ${}_{21}\text{CIPCQLR}_{27}$  (приведен в SEQ ID NO: 375),  ${}_{30}\text{SNTPLTCQR}_{39}$  и/или  ${}_{44}\text{SVTNSVK}_{50}$  (приведен в SEQ ID NO: 393). Показано, что BCMA-26 scFv узнает эпитоп, содержащий остатки, присутствующие в  ${}_{8}\text{CSQNEYF}_{14}$  (приведен в SEQ ID NO: 410) и  ${}_{17}\text{LLHACIPCQLR}_{27}$  (приведен в SEQ ID NO: 428). Установлено, что BCMA-52-scFv-mFc связывает эпитоп, содержащий остатки следующих прерывистых пептидов:  ${}_{10}\text{QNEYF}_{14}$  (SEQ ID NO: 637),  ${}_{21}\text{CIPCQL}_{26}$  (SEQ ID NO: 638) и  ${}_{7}\text{CQRYC}_{41}$  (SEQ ID NO: 639). Установлено, что BCMA-55-scFv-mFc специфически связывает эпитоп, содержащий остатки, присутствующие в пептидах, содержащих прерывистые фрагменты полипептидной последовательности BCMA, индивидуально содержащие следующие последовательности:  ${}_{1}\text{MLMAG}_6$  (SEQ ID NO: 640),  ${}_{13}\text{YFDSL}_{17}$  (SEQ ID NO: 779) и  ${}_{25}\text{QLRCSSNTPL}_{35}$  (SEQ ID NO: 642). В некоторых вариантах осуществления предложенное антитело, или рецептор, специфически связывает эпитоп, содержащий остатки, присутствующие в одном или более, например, каждом, из прерывистых пептидов, имеющих последовательности: MLMAG (SEQ ID NO: 640), YFDSL (SEQ ID NO: 779) и QLRCSSNTPL (SEQ ID NO: 642). В некоторых аспектах предложенное антитело, или рецептор, специфически связывает эпитоп, содержащий остатки, присутствующие в одном или более, например, каждом, из следующих прерывистых пептидов, имеющих последовательности: MLMAG (SEQ ID NO: 640), YFDSL (SEQ ID NO: 641) и QLRCSSNTPL (SEQ ID NO: 642); в некоторых аспектах предложенное антитело, или рецептор, специфически связывает эпитоп, содержащий остатки, присутствующие в одном или более, например, каждом, из следующих прерывистых пептидов, имеющих последовательности: MLMAG (SEQ ID NO: 640), QNEYFDSL (SEQ ID NO: 780) и QLRCSSNTPL (SEQ ID NO: 642).

**Пример 18. Введение анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток субъектам с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой (MM)**

[0683] Химерный антигенный рецептор (CAR)-экспрессирующие Т-клеточные композиции, содержащие аутологичные Т-клетки, экспрессирующие CAR, специфический для антигена созревания В-клеток (BCMA), вводили людям с рецидивирующей и/или

рефрактерной множественной миеломой (ММ).

#### **А. Субъекты и лечение**

[0684] Композиции, содержащие аутологичные Т-клетки, генетически модифицированные для экспрессии иллюстративного CAR, специфического для ВСМА, вводили взрослым субъектам-людям с рецидивирующей или рефрактерной (R/R) множественной миеломой (ММ), которые ранее получали 3 или более видов терапии (3 или более предшествующих видов терапии, включая по меньшей мере ингибитор протеасом, иммуномодулирующее средство и анти-CD38 моноклональное антитело, в каждом случае, кроме тех случаев, когда субъект не являлся кандидатом на получение такого лечения, например, если оно ему было противопоказано).

[0685] Вводимые Т-клеточные композиции были получены способом, включающим основанное на иммунной аффинности обогащение CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клеточных популяций из лейкоферезных образцов отдельных субъектов с ММ, объединение клеток таких популяций, например, в соотношении или соотношении примерно 1:1, и проведение клеток через этапы обработки, включающие трансдукцию, размножение клеток, а также криоконсервирование и получение клеток с диапазоном соотношений CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> CAR Т-клеток. CAR содержали полученный из ВСМА-55 связывающий домен scFv, модифицированный полученный из IgG спейсер CH2-CH3-шарнир, трансмембранный домен CD28 и внутриклеточную сигнальную область, включающую, последовательно, эндодомен 4-1BB и эндодомены CD3-дзета. Полинуклеотидная последовательность, кодирующая анти-ВСМА CAR, не содержала идентифицированные потенциальные скрытые сайты донора и акцептора сплайсинга.

[0686] За два-семь дней до инфузии CAR<sup>+</sup> Т-клеток (и с завершением по меньшей мере за 48 часов до инфузии CAR-Т) субъекты получали лимфодеплеционную химиотерапию (ЛДХ) флударабином (flu, 30 мг/м<sup>2</sup>/сутки) и циклофосфамидом (Cy, 300 мг/м<sup>2</sup>/сутки) в течение 3 дней, при этом ЛДХ была завершена по меньшей мере за 48 часов до инфузии CAR-Т. Криоконсервированные клеточные композиции размораживали у постели больного перед внутривенным введением, при этом день инфузии определяли, как день 1. В день 1 субъектам вводили дозу CAR-экспрессирующих Т-клеток следующим образом: одну дозу уровня дозы 1 (УД1), содержащую 5×10<sup>7</sup> суммарных CAR-экспрессирующих Т-клеток, или одну дозу уровня дозы 2 (УД2), содержащую 1,5×10<sup>8</sup> суммарных CAR-экспрессирующих Т-клеток.

[0687] В конкретный момент времени анализа 19 взрослых субъектов были включены в текущее клиническое исследование, включающее такую терапию. Из этих 19 субъектов в данный конкретный момент времени 13 субъектам были введены анти-ВСМА CAR<sup>+</sup> клетки, каждый раз в дозе либо УД1, либо УД2. Из этих 13 субъектов в данный конкретный момент времени в текущем исследовании у 8 субъектов были оценены характеристики, являющиеся показателем безопасности (оценка на основе ≥1 месяца последующего наблюдения) (n=5 УД1; n=3 УД2). Один субъект не мог получать CAR<sup>+</sup> Т-клетки вследствие сепсиса после ЛДХ, который привел к смерти до введения CAR<sup>+</sup> Т-

клеток. Три субъекта (все УД1) могли быть оценены в данный момент времени на подтвержденный ответ (оценка на основе  $\geq 12$  месяцев последующего наблюдения) в соответствии с универсальными критериями ответа, разработанными Международной рабочей группой по изучению миеломы (IMWG) (Kumar *et al.* (2016) *Lancet Oncol* 17(8):e328-346).

[0688] Для этих 8 субъектов, оцениваемых в данный момент времени, средний период последующего наблюдения составлял 5 недель (диапазон 4-13 недель). Средний возраст составлял 53 года (диапазон 36-66), со средним временем после постановки диагноза, составляющим 4 года (диапазон 2-12). Субъекты получали, в среднем, 10 предшествующих режимов лечения ММ (диапазон 4-15). Из 8 субъектов 4 (50%) были невосприимчивыми (без ответа или с прогрессированием в течение 60 дней после последней терапии) к бортезомибу, карфилзомибу, леналидомиду, помалидомиду и анти-CD38 моноклональному антителу. Семь из 8 субъектов (88%) ранее получали аутологичный трансплантат стволовых клеток, и 4 из 8 (50%) имели цитогенетику высокого риска в соответствии с IMWG.

[0689] В процессе оценки в момент времени в текущем исследовании никакую ДЛТ не наблюдали у оцениваемых субъектов, получающих УД1 или УД2. Синдром высвобождения цитокинов (CRS), в каждом случае степени 1 или 2, был отмечен в момент времени у 6 из 8 (75%) субъектов. Среднее начало CRS в момент времени у 8 субъектов приходилось на 9 день (диапазон 4-10) со средней продолжительностью 4,5 дня (диапазон 2-19 дней). Ни одному из субъектов со степенью 2 CRS в конкретный момент времени не потребовалось применение сосудосуживающих препаратов, и только 1 субъект получал тоцилизумаб. Ни у одного из субъектов не развился CRS степени 3 или выше. Трое из 8 (38%) субъектов испытали неврологические нежелательные явления (НЯ). Двое из восьми субъектов в конкретный момент времени испытали нежелательные явления степени 1, и 1 испытал нежелательное явление степени 3 (летаргия), которое было разрешено в течение 24 часов после введения стероидов. Начало неврологических НЯ пришлось на дни 9, 11 и 12, с продолжительностью 2, 3 и 1 день, соответственно, у 3 субъектов, испытывавших неврологические НЯ. У субъекта, испытывавшего нейротоксичность (НТ) степени 3 по результатам анализа в данный момент времени, развился вторичный плазмоклеточный лейкоз (PCL) непосредственно перед получением ЛДХ.

[0690] У всех 8 субъектов, наблюдаемых в данный момент времени, имели место признаки объективного ответа, включая субъекта со вторичным PCL. У трех субъектов, все из которых получали УД1, были достигнуты подтвержденные ответы (1 частичный ответ, ЧО; 2 строгих полных ответа, СПО), при этом у остальных субъектов ответы остались не подтвержденными (1 полный ответ, ПО; 2 очень хороших частичных ответа, ОХЧО; 1 ЧО, 1 МО). На момент оценки ни у одного из субъектов не наблюдалось прогрессирование.

[0691] Результаты показали, что при оцениваемых уровнях доз терапия анти-BCMA CAR клетками имела благоприятные профили безопасности, без ДЛТ, наблюдаемых на данный момент времени в текущем клиническом исследовании. Результаты

соответствовали выводу о том, что в данный момент времени частота развития НТ степени 3 или выше, была низкой, и не наблюдалось ни одного случая CRS степени 3 или выше при клиническом ответе.

[0692] Объем настоящего изобретения не должен быть ограничен конкретными раскрытыми вариантами осуществления, которые предложены, например, для иллюстрации различных аспектов изобретения. Различные модификации описанных композиций и способов станут очевидными из приведенного в настоящем документе описания и изложенных идей. Такие вариации могут быть осуществлены на практике без отклонения от объема и сущности изобретения и должны входить в объем настоящего изобретения.

#### ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	Описание
1	DYAMS	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H1 (ак) нумерация Kabat
2	DYYMS	BCMA-2, -9, -10, -12, -17, -21, -22, -23, -24, -26, -32, -33, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -47, -48, -49 CDR-H1 (ак) нумерация Kabat
3	DYAMH	BCMA-11, -20, -27, -28, -29, -30, -34, -39 CDR-H1 (ак) нумерация Kabat
4	FIRSKAYGGTTEYAASVKG	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
5	YISSSGSTIYYADSVKG	BCMA-2, -9, -10, -12, -17, -21, -22, -23, -26, -32, -35, -36, -37, -38, -40, -47, -48, -49 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
6	GISWNSGSIGYADSVKG	BCMA-11, -20, -24, -27, -29, -

		30, -34, -39 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
7	WSAPTDY	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 и VH-2 CDR-H3 (ак)
8	VDGPPSSDI	BCMA-2 CDR-H3 (ак)
9	VDGDYVDDY	BCMA-9, -36, -37, -38, -41 и VH-8 CDR-H3 (ак)
10	VDGPPSFDI	BCMA-10, -12, -26, -32, -47, -48, -49 и VH-1 CDR-H3 (ак)
11	DLGPDYDPDAFDI	BCMA-11, -34 CDR-H3 (ак)
12	GFTFGDY	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -30, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H1 (ак) нумерация Chothia
13	GFTFSDY	BCMA-2, -9, -12, -17, -21, -22, -23, -24, -26, -32, -33, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -47, -48, -49 CDR-H1 (ак) нумерация Chothia
14	GFPFSDY	BCMA-10 CDR-H1 (ак) нумерация Chothia
15	GFTFDDY	BCMA-11, -20, -27, -28, -29, -34, -39 CDR-H1 (ак) нумерация Chothia
16	RSKAYGGT	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
17	SSSGST	BCMA-2, -9, -10, -12, -17, -21, -22, -23, -26, -32, -35, -36, -37, -38, -40, -47, -48 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
18	SWNSGS	BCMA-11, -20, -24, -27, -29, -

		30, -34, -39 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
19	GFTFGDYAMS	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
20	GFTFSDYYMS	BCMA-2, -9, -12, -17, -21, -22, -23, -24, -26, -32, -33, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -47, -48, -49 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
21	GFPFSDYYMS	BCMA-10 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
22	GFTFDDYAMH	BCMA-11, -20, -27, -28, -29, -34, -39 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
23	FIRSKAYGGTTE	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
24	YISSSGSTIY	BCMA-2, -9, -10, -12, -17, -21, -22, -23, -26, -32, -35, -36, -37, -38, -40, -47, -48, -49 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
25	GISWNSGSIG	BCMA-11, -20, -24, -27, -29, -30, -34, -39 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
26	KSSQSVLSTSNNKNYLA	BCMA-1 CDR-L1 (ак)
27	RASQSIKTNLA	BCMA-2 CDR-L1 (ак)
28	KSSQSVLHSSNNKNYLA	BCMA-3, -46 CDR-L1 (ак)
29	RASQDIRNSLA	BCMA-4 CDR-L1 (ак)
30	KSSQSVLYSSNNKNYLA	BCMA-5, -8, -24 CDR-L1 (ак)
31	RASQISNSLA	BCMA-6 CDR-L1 (ак)
32	RASQDIGDYLA	BCMA-7 CDR-L1 (ак)
33	GANNIGSKSVH	BCMA-9, -26, -35 CDR-L1 (ак)
34	GGNNIERKNVH	BCMA-10 CDR-L1 (ак)

35	SGSSSNIGSNAVN	BCMA-11 CDR-L1 (ак)
36	SGSRSNIGNNYVS	BCMA-12 CDR-L1 (ак)
37	WASTREA	BCMA-1 CDR-L2 (ак)
38	AASTRAT	BCMA-2 CDR-L2 (ак)
39	WASTRES	BCMA-3, -5, -8, -31, -44, -46 CDR-L2 (ак)
40	AASRLES	BCMA-4, -42 CDR-L2 (ак)
41	AASNVED	BCMA-6 CDR-L2 (ак)
42	VASTLQS	BCMA-7 CDR-L2 (ак)
43	DDDDRPS	BCMA-9, -26, -35 CDR-L2 (ак)
44	DDSDRAS	BCMA-10 CDR-L2 (ак)
45	NSHQRPS	BCMA-11 CDR-L2 (ак)
46	DNAKRPS	BCMA-12 CDR-L2 (ак)
47	QQYFSSPYT	BCMA-1 CDR-L3 (ак)
48	QQYGSSPT	BCMA-2 CDR-L3 (ак)
49	QQYYTTPLT	BCMA-3, -46 CDR-L3 (ак)
50	QQYYSLPLS	BCMA-4 CDR-L3 (ак)
51	QQYYSTPWT	BCMA-5 CDR-L3 (ак)
52	QQSHMYPPT	BCMA-6 CDR-L3 (ак)
53	QQYHSHPWWT	BCMA-7 CDR-L3 (ак)
54	QQYYSTPYT	BCMA-8, -31 CDR-L3 (ак)
55	HVWDRSRDHVV	BCMA-9 CDR-L3 (ак)
56	QAWDSSSTLYV	BCMA-10 CDR-L3 (ак)
57	AAWDDSLRGYV	BCMA-11 CDR-L3 (ак)
58	QVWDSSSDHWV	BCMA-12, -32, -48 CDR-L3 (ак)
59	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFG	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, - 45, -46 VH FR1 (ак)
60	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-2, -12, -22, -23, -26, - 40, -48 VH FR1 (ак)
61	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-9, -24, -35, -37 VH FR1 (ак)
62	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFS	BCMA-10 VH FR1 (ак)

63	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD	BCMA-11, -28, -29, -39 VH FR1 (ак)
64	WFRQAPGKGGLEWVG	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 VH FR2 (ак)
65	WIRQAPGKGGLEWVS	BCMA-2, -9, -10, -12, -21, -22, -23, -24, -26, -32, -33, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -47, -48, -49 VH FR2 (ак)
66	WVRRAPGKGGLEWVS	BCMA-11 VH FR2 (ак)
67	RFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCAA	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -25, -31, -42, -44, -45, -46, -51 VH FR3 (ак)
68	RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	BCMA-2, -10, -12, -21, -22, -23, -26, -32, -40, -41, -48, -49 VH FR3 (ак)
69	RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	BCMA-9, -11, -17, -24, -28, -29, -30, -33, -34, -35, -36, -38, -39 VH FR3 (ак)
70	WGQGTLVTVSS	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -15, -16, -18, -20, -21, -22, -23, -25, -27, -31, -35, -36, -37, -38, -40, -41, -42, -44, -45, -46, -51 VH FR4 (ак)
71	WGQGTMTVTVSS	BCMA-2, -10, -11, -12, -24, -26, -29, -30, -32, -34, -39, -48, -49, -50 VH FR4 (ак)
72	DIVMTQSPDSLSPGERATISC	BCMA-1 VL FR1 (ак)
73	EIVMTQSPATLSVSPGETATLSC	BCMA-2 VL FR1 (ак)
74	DIVMTQSPDSLVSLSGERATINC	BCMA-3, -46 VL FR1 (ак)
75	AIRMTQSPSSLSASLGDRVTITC	BCMA-4 VL FR1 (ак)
76	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	BCMA-5, -8, -24 VL FR1 (ак)
77	DIVMTQSPSSLSVSVGERVTITC	BCMA-6 VL FR1 (ак)
78	VIQLTQSPSSLSASVGDRTITC	BCMA-7 VL FR1 (ак)

79	SYELTQPPSVSVAPGQTARVTC	BCMA-9 VL FR1 (ак)
80	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITC	BCMA-10, -26 VL FR1 (ак)
81	QLVLTQPPSASGTPGQRTISC	BCMA-11 VL FR1 (ак)
82	QSALTQPPSVSAAPGQKVTISC	BCMA-12 VL FR1 (ак)
83	WYQQKPGQPPRLLLY	BCMA-1 VL FR2 (ак)
84	WYQQKPGQAPRLLIY	BCMA-2, -34 VL FR2 (ак)
85	WYQQKPGQPPKLLIY	BCMA-3, -5, -8, -24, -44, -46 VL FR2 (ак)
86	WYQQRPGKAPKLLLS	BCMA-4 VL FR2 (ак)
87	WYKQRPGEAPKLLIH	BCMA-6 VL FR2 (ак)
88	WFQQRPGKAPKSLIY	BCMA-7 VL FR2 (ак)
89	WYQQKPGQAPMLVVY	BCMA-9, -26, -35 VL FR2 (ак)
90	WYQQKPGQAPVPVVY	BCMA-10 VL FR2 (ак)
91	WYQQLPGTAPEVLIY	BCMA-11 VL FR2 (ак)
92	WYQQLPGTAPKLLIY	BCMA-12 VL FR2 (ак)
93	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC	BCMA-1, -3, -5, -8, -31, -44, - 46 VL FR3 (ак)
94	GIPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYC	BCMA-2 VL FR3 (ак)
95	GVPSRFSGTTSGAEYALSISSLQPEDVASYFC	BCMA-4 VL FR3 (ак)
96	GVPSRFSGRSGSTVFTLAISNVQPEDFATYYC	BCMA-6 VL FR3 (ак)
97	GVPSRFSGSGSGTHFTLTINSLQPEDFATYYC	BCMA-7 VL FR3 (ак)
98	GIPERFSGSNSGNTATLTISGVEAGDEADYFC	BCMA-9, -26, -35 VL FR3 (ак)
99	GIPERFSASNSGNTATLTISGAQATDEAEYYC	BCMA-10 VL FR3 (ак)
100	GVPDRFSGSKSGTSASLAINGLQSEDEADYYC	BCMA-11 VL FR3 (ак)
101	GIPDRFSGSKSGTSATLDIAGLQTGDEADYYC	BCMA-12 VL FR3 (ак)
102	FGHGTKLEIK	BCMA-1 VL FR4 (ак)
103	FGRGTKLEIK	BCMA-2, -39 VL FR4 (ак)
104	FGGGTKVEIK	BCMA-3, -4, -6, -30, -46 VL FR4 (ак)
105	FGQGTKVDIK	BCMA-5, -45 VL FR4 (ак)
106	FGPGTKVDIK	BCMA-7 VL FR4 (ак)
107	FGQGTKLEIK	BCMA-8, -44 VL FR4 (ак)
108	FGTGTKLTVL	BCMA-9, -10, -11, -26, -40, - 47 VL FR4 (ак)

109	FGGGTKLTVL	BCMA-12, -14, -15, -16, -17, -18, -32, -33, -36, -37, -38, -41, -48, -49, -50 VL FR4 (ак)
110	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSS	BCMA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -45, -46 VH-цепь (ак)
111	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSSDIWGQGTMTVTVSS	BCMA-2 VH-цепь (ак)
112	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV DGDYVDDYWGQGLVTVSS	BCMA-9 VH-цепь (ак)
113	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGQGTMTVTVSS	BCMA-10 VH-цепь (ак)
114	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRRAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPDYDPDAFDIWGQGTMTVTVSS	BCMA-11 VH-цепь (ак)
115	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGQGTMTVTVSS	BCMA-12, -26, -48 VH-цепь (ак)
116	DIVMTQSPDLSVSPGERATISCKSSQSVLSTSN KNYLAWYQQKPGQPRLLYWASTREAGVPDR FSGSGGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQYFSSP YTFGHGKLEIK	BCMA-1 VL-цепь (ак)
117	EIVMTQSPATLSVSPGETATLSCRASQSIKTNLA WYQQKPGQAPRLLIYAASTRATGIPDRFSGSGSG TDFTLTITRLEPEDFAVYYCQQYGSSPTFGRGTK	BCMA-2 VL-цепь (ак)

	LEIK	
118	DIVMTQSPDSL VVSLGERATINCKSSQSVLHSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYTT PLTFGGGTKVEIK	BCMA-3, -46 VL-цепь (ак)
119	AIRMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDIRNSLA WYQQRPGKAPKLLLSAASRLESGVPSRFSGTTS GAEYALSISSLQPEDVASYFCQQYYSLPLSFGGG TKVEIK	BCMA-4 VL-цепь (ак)
120	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYST PWTFGQGTKVDIK	BCMA-5 VL-цепь (ак)
121	DIVMTQSPSSLSVSVGERVTITCRASQISISNSLAW YKQRPGEAPKLLIHAASNVEDGVPSRFSGRGSGT VFTLAISNVQPEDFATYYCQQSHMYPPTFGGGT KVEIK	BCMA-6 VL-цепь (ак)
122	VIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGDYLA WFQQRPGKAPKSLIYVASTLQSGVPSRFSGSGSG THFTLTINSLQPEDFATYYCQQYHSHPWTFGPGT KVDIK	BCMA-7 VL-цепь (ак)
123	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYST PYTFGQGTKLEIK	BCMA-8 VL-цепь (ак)
124	SYELTQPPSVSVAPGQTARVTCGANNIGSKSVH WYQQKPGQAPMLV VYDDDDRPSGIPERFSGSNS GNTATLTISGVEAGDEADYFCHVWDRSRDHYV FGTGTKLTVL	BCMA-9 VL-цепь (ак)
125	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGNNIERKNVH WYQQKPGQAPVPV VYDDSDRASGIPERFSASNS GNTATLTISGAQATDEAEYYCQAWDSSSTLYVF GTGTKLTVL	BCMA-10 VL-цепь (ак)
126	QLVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNAVN	BCMA-11 VL-цепь (ак)

	WYQQLPGTAPEVLIYN SHQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAINGLQSEDEADYYCAA WDDSLRGYVF GTGTKLTVL	
127	QSALTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSR SNIGNNYV SWYQQLPGTAPKLLIYDNAKRPSGIPDRFSGSKS GTSATLDIAGLQTGDEADYYCQVWDSSSDHWV FGGGTKLTVL	BCMA-12 VL-цепь (ак)
128	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDSLSPGERATISCKSSQSVLST SNNKNYLAWYQQKPGQPPRLLLYWASTREAGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYF SSPYTFGHGKLEIK	BCMA-1 scFv (ак)
129	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSSDIWGQGMVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSEIVMTQSPATLSVSPGETATLSCRASQSIKTNL AWYQQKPGQAPRLLIYA ASTRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQQYGSSPTFGRGT KLEIK	BCMA-2 scFv (ак)
130	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDSL VVSLGERATINCKSSQSVLH SSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY TTPLTFGGGKVEIK	BCMA-3, 46 scFv (ак)
131	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG	BCMA-4 scFv (ак)

	<p>GGSAIRMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDIRNS LAWYQQRPGKAPKLLLSAASRLESGVPSRFSGT TSGAEYALSISLQPEDVASYFCQQYYSLPLSFG GGTKVEIK</p>	
132	<p>QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLY SSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY STPWTFGQGTKVDIK</p>	BCMA-5 scFv (ακ)
133	<p>QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPSSLSVSVGERVTITCRASQISISNS LAWYKQRPGEAPKLLIHAASNVEDGVPSRFSGR GSGTVFTLAINVQPEDFATYYCQQSHMYPPTFG GGTKVEIK</p>	BCMA-6 scFv (ακ)
134	<p>QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSVIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIGDY LAWFQQRPGKAPKSLIYVASTLQSGVPSRFSGSG SGTHFTLTINSLQPEDFATYYCQQYHSHPWTFGP GTKVDIK</p>	BCMA-7 scFv (ακ)
135	<p>QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLY SSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY</p>	BCMA-8 scFv (ακ)

	STPYTFGQGTKLEIK	
136	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV DGDYVDDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSSYELTQPPSVSVAPGQTARVTCGANNIGSKS VHWYQQKPGQAPMLVYDDDRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHVWDRSRDH YVFGTGTKLTVL	BCMA-9 scFv (ак)
137	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFPSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIERKNV HWYQQKPGQAPVPVYDDSDRASGIPERFSASN SGNTATLTISGAQATDEAEYYCQAWDSSSTLYV FGTGTKLTVL	BCMA-10 scFv (ак)
138	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRRAPGKGLEWVSGISWNSGSGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPDYDPDAFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQLVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSS NIGSNAVNWYQQLPGTAPEVLIYNHQRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAINGLQSEDEADYYCAAWD DSLRGYVFGTGTKLTVL	BCMA-11 scFv (ак)
139	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQSALTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSRSNIGNN YVSWYQQLPGTAPKLLIYDNAKRPSGIPDRFSGS KSGTSATLDIAGLQTGDEADYYCQVWDSSSDH WVFGGGTKLTVL	BCMA-12 scFv (ак)
140	SYAMH	BCMA-13 CDR-H1 (ак) нумерация Kabat

141	SYGMH	BCMA-14, -15 CDR-H1 (ак) нумерация Kabat
142	SSAMQ	BCMA-16 CDR-H1 (ак) нумерация Kabat
143	SYWMS	BCMA-18 CDR-H1 (ак) нумерация Kabat
144	SYYMH	BCMA-19 CDR-H1 (ак) нумерация Kabat
145	VISYDGSNKYYADSVKG	BCMA-13, -14, -15 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
146	WIVVGSNTNYAQKFQE	BCMA-16 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
147	HINQDGSEKYYVDSVKG	BCMA-18 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
148	WINPNSGGTNYAQKFQG	BCMA-19 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
149	LPGRDGYPGAFDY	BCMA-13, -14 CDR-H3 (ак)
150	DQYSSSAQRADFY	BCMA-15 CDR-H3 (ак)
151	APYYDILTGYYL	BCMA-16 CDR-H3 (ак)
152	EADSSADY	BCMA-17, -33 CDR-H3 (ак)
153	WLAVTN	BCMA-18 CDR-H3 (ак)
154	DGGDV	BCMA-19 CDR-H3 (ак)
155	GGLGITPYFDY	BCMA-20, -27 CDR-H3 (ак)
156	VDGGYTEDY	BCMA-21 CDR-H3 (ак)
157	VDGDYTEDY	BCMA-22, -23, -40 CDR-H3 (ак)
158	GFTFSSY	BCMA-13, -14, -15, -18 CDR- H1 (ак) нумерация Chothia
159	GFTFTSS	BCMA-16 CDR-H1 (ак) нумерация Chothia
160	GYTFTSY	BCMA-19 CDR-H1 (ак) нумерация Chothia
161	SYDGSN	BCMA-13, -14, -15 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia

162	VVGSGN	BCMA-16 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
163	NQDGSE	BCMA-18 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
164	NPNSGG	BCMA-19 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
165	GFTFSSYAMH	BCMA-13 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
166	GFTFSSYGMH	BCMA-14, -15 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
167	GFTFTSSAMQ	BCMA-16 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
168	GFTFSSYWMS	BCMA-18 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
169	GYTFTSYMH	BCMA-19 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
170	VISYDGSNKY	BCMA-13, -14, -15 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
171	WIVVGSGNTN	BCMA-16 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
172	HINQDGSEKY	BCMA-18 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
173	WINPNSGGTN	BCMA-19 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
174	GSGSNIGSNDVS	BCMA-13, -14, -15, -16, -18, - 21 CDR-L1 (ак)
175	GGNNIGFKGVQ	BCMA-17, -33 CDR-L1 (ак)
176	TGTSSDVGDYNYVA	BCMA-19 CDR-L1 (ак)
177	SGGKTVN	BCMA-20, -27 CDR-L1 (ак)
178	TGSSSDVGKYNLVS	BCMA-22, -23 CDR-L1 (ак)
179	WNDQRPS	BCMA-13, -14, -15, -16, -18, - 21 CDR-L2 (ак)
180	DDSDRPS	BCMA-17, -32, -33 CDR-L2 (ак)

181	EVINRPS	BCMA-19 CDR-L2 (ак)
182	SNDQRPS	BCMA-20, -27 CDR-L2 (ак)
183	DVNRKPS	BCMA-22, -23, -40 CDR-L2 (ак)
184	AAWDDSLGGSWV	BCMA-13 CDR-L3 (ак)
185	AAWDDRLNGFWV	BCMA-14 CDR-L3 (ак)
186	AAWDDSLSGWV	BCMA-15 CDR-L3 (ак)
187	ASWDDSLSGWV	BCMA-16 CDR-L3 (ак)
188	QVWDSASDHWV	BCMA-17, -33 CDR-L3 (ак)
189	AAWDDSLNGWV	BCMA-18 CDR-L3 (ак)
190	ISYSRGSTPYV	BCMA-19 CDR-L3 (ак)
191	GSWDDSLNAWV	BCMA-20, -27 CDR-L3 (ак)
192	AAWDDSLNGYV	BCMA-21 CDR-L3 (ак)
193	CSYGGRSYV	BCMA-22, -40 CDR-L3 (ак)
194	SSYGGRSYV	BCMA-23 CDR-L3 (ак)
195	QMQLVQYGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	BCMA-13 VH FR1 (ак)
196	EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	BCMA-14 VH FR1 (ак)
197	QVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-15, -47 VH FR1 (ак)
198	EVQLVQSGPEVKKPGTsvkvSCKASGFTFT	BCMA-16 VH FR1 (ак)
199	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-17, -33, -36, -38, -41 VH FR1 (ак)
200	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-18 VH FR1 (ак)
201	QVQLVQSGAEVKKPGASVkvSCKASGYTFT	BCMA-19 VH FR1 (ак)
202	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD	BCMA-20 VH FR1 (ак)
203	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFS	BCMA-21 VH FR1 (ак)
204	WVRQAPGKGLEWVA	BCMA-13, -14, -15 VH FR2 (ак)
205	WVRQARGQRLEWIG	BCMA-16 VH FR2 (ак)
206	WIRLAPGKGLEWVS	BCMA-17 VH FR2 (ак)
207	WHRQAPGKGPEWVA	BCMA-18 VH FR2 (ак)
208	WVRQAPGQGLEWVG	BCMA-19 VH FR2 (ак)
209	WVRQAPGKGLEWVS	BCMA-20, -27, -28, -29, -30, -34, -39 VH FR2 (ак)
210	RFTISRDNskntlylQMNSLKAEDTAVYYCAT	BCMA-13 VH FR3 (ак)

211	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT	BCMA-14 VH FR3 (ак)
212	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	BCMA-15 VH FR3 (ак)
213	RVTITRDMSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAA	BCMA-16 VH FR3 (ак)
214	RFTISRDN AESSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	BCMA-18 VH FR3 (ак)
215	RVTMTRDTSISTAYMEL SRLRSDDTAVYYCAR	BCMA-19 VH FR3 (ак)
216	RFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAK	BCMA-20, -27 VH FR3 (ак)
217	RGQGTLVTVSS	BCMA-13 VH FR4 (ак)
218	RGPGTLVTVSS	BCMA-14 VH FR4 (ак)
219	WGQGTLVNVSS	BCMA-17, -33 VH FR4 (ак)
220	WGQGTTVTVSS	BCMA-19 VH FR4 (ак)
221	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISC	BCMA-13, -14 VL FR1 (ак)
222	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC	BCMA-15, -18, -21 VL FR1 (ак)
223	QSALTQPPSASGTPGQRVTISC	BCMA-16 VL FR1 (ак)
224	QPVL TQPPSVSVAPGKTAMITC	BCMA-17, -33 VL FR1 (ак)
225	QAVLTQPASVSGSPGQSITISC	BCMA-19 VL FR1 (ак)
226	QPVL TQPPSASGTPGQRVTISC	BCMA-20, -27 VL FR1 (ак)
227	QSALTQPASVSGSPGQSITISC	BCMA-22, -23, -40 VL FR1 (ак)
228	WYQQIPGTAPKLLIY	BCMA-13, -14, -15, -16, -18, -21 VL FR2 (ак)
229	WYQQKTGQAPVLV VY	BCMA-17, -33 VL FR2 (ак)
230	WYQQHPGKDPKLMIF	BCMA-19 VL FR2 (ак)
231	WFRQVPGTAPQLLIY	BCMA-20, -27 VL FR2 (ак)
232	WYQQPPGKAPKLIY	BCMA-22, -23, -40 VL FR2 (ак)
233	GVPDRFSASKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYC	BCMA-13 VL FR3 (ак)
234	GVPDRFSGSKSGASASLAI SGLQSEDEADYYC	BCMA-14 VL FR3 (ак)
235	GVPDRFSGSKSGTSASL VISGLRSEDEADYYC	BCMA-15 VL FR3 (ак)
236	GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLQSEDEADYYC	BCMA-16 VL FR3 (ак)
237	GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC	BCMA-17, -33 VL FR3 (ак)
238	GVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYC	BCMA-18 VL FR3 (ак)
239	GVSDRFSGSKSGNTASLDISGLQPEDEADYYC	BCMA-19 VL FR3 (ак)
240	GVPDRFSGSKSGSSASLDISGLQSEDEA YYYC	BCMA-20, -27 VL FR3 (ак)

241	GVPDRFSGSKSGISASLAISGLRSEDEADYYC	BCMA-21 VL FR3 (ак)
242	GVSNRFGSKSGNTATLTISGLQGDDEADYYC	BCMA-22, -23, -40 VL FR3 (ак)
243	FGGGTKVTVL	BCMA-13 VL FR4 (ак)
244	IGTGTKVTVL	BCMA-19 VL FR4 (ак)
245	FGGETKLTVL	BCMA-20, -27 VL FR4 (ак)
246	FGTGTKVTVL	BCMA-21, -22, -23 VL FR4 (ак)
247	QMQLVQYGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYA MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCA TLPGRDGYPGA FDYRGQGLTVTVSS	BCMA-13 VH-цепь (ак)
248	EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA TLPGRDGYPGA FDYRGPGLTVTVSS	BCMA-14 VH-цепь (ак)
249	QVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KDQYSSSAQRADFDYWGQGLTVTVSS	BCMA-15 VH-цепь (ак)
250	EVQLVQSGPEVKKPGT SVKVSCKASGFTFTSSA MQWVRQARGQRLEWIGWIVVGSNTNYAQKF QERVITITRDMSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCA AAPYYDILTGYYLWGQGLTVTVSS	BCMA-16 VH-цепь (ак)
251	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRLAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGR FTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREA DSSADYWGQGLTVNVSS	BCMA-17 VH-цепь (ак)
252	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MSWHRQAPGKGP EWVAHINQDGSEKYYVDSV KGRFTISRDN AESSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RWLAVTNWGQGLTVTVSS	BCMA-18 VH-цепь (ак)
253	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQK	BCMA-19 VH-цепь (ак)

	FQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYC ARDGGDVWGQGTTVTVSS	
254	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAK GGLGITPYFFDYWGQGLTVTVSS	BCMA-20 VH-цепь (ак)
255	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGGYTEDYWGQGLTVTVSS	BCMA-21 VH-цепь (ак)
256	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGDYTEDYWGQGLTVTVSS	BCMA-22, -23, -40 VH-цепь (ак)
257	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVS WYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSASKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLGGSWV FGGGTKVTVL	BCMA-13 VL-цепь (ак)
258	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVS WYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKS GASASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDRLNGFW VFGGGTKLTVL	BCMA-14 VL-цепь (ак)
259	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVS WYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLVISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGWVF GGGTKLTVL	BCMA-15 VL-цепь (ак)
260	QSALTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVS WYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEADYYCASWDDSLSGWVF GGGTKLTVL	BCMA-16 VL-цепь (ак)
261	QPVLTPPPSVSVAPGKTAMITCGGNNIGFKGVQ WYQQKTGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNS GNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSASDHWV FGGGTKLTVL	BCMA-17, -33 VL-цепь (ак)

262	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVS WYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGWVF GGGTKLTVL	BCMA-18 VL-цепь (ак)
263	QAVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGDYNY VAWYQQHPGKDPKLMIFEVINRPSGVSDRFSGS KSGNTASLDISGLQPEDEADYYCISYSRGSTPYVI GTGTKVTVL	BCMA-19 VL-цепь (ак)
264	QPVLTPPPSASGTPGQRVTISCSGSKTVNWFRQ VPGTAPQLLIYSNDQRPSGVPDRFSGSKSGSSAS LDISGLQSEDEAYYYCGSWDDSLNAWVFGGET KLTVL	BCMA-20, -27 VL-цепь (ак)
265	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSNDVS WYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGSKS GISASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGYVF GTGTKVTVL	BCMA-21 VL-цепь (ак)
266	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLV SWYQQPPGKAPKLIIDVNRPSGVSNRFSGSKS GNTATLTISGLQGDDEADYYCCSYGGSRSYVFG TGTKVTVL	BCMA-22 VL-цепь (ак)
267	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYNLV SWYQQPPGKAPKLIIDVNRPSGVSNRFSGSKS GNTATLTISGLQGDDEADYYCSSYGGSRSYVFG TGTKVTVL	BCMA-23 VL-цепь (ак)
268	QMQLVQYGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYA MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCA TLPGRDGYPGAFDYRGQGLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSG SNIGSNDVSWYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVP DRFSASKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWD DSLGGSWVFGGGTKVTVL	BCMA-13 scFv (ак)
269	EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV	BCMA-14 scFv (ак)

	KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA TLPGRDGYPGA FDYRGPGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGS NIGSNDVSWYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVP DRFSGSKSGASASLAISGLQSEDEADYYCAA DRLNGFWVFGGGTKLTVL	
270	QVQLLES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KDQYSSSAQRADFDYWGQGLTVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSG GSNIGSNDVSWYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLVISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSGWVFGGGTKLTVL	BCMA-15 scFv (ak)
271	EVQLVQSGPEVKKPGT SVKVSCKASGFTFTSSA MQWVRQARGQRLEWIGWIVVSGNTNYAQKF QERVITRDMSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCA AAPYYDILTGYYLWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSQSAL TQPPSASGTPGQRVTISCSGSGS NIGSNDVSWYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCASWD DSL SGWVFGGGTKLTVL	BCMA-16 scFv (ak)
272	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRLAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGR FTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREA DSSADYWGQGLTVNVSSGGGGSGGGGSGGGGS QPVL TQPPSVSVAPGKTAMITCGGNNIGFKGVQ WYQQKTGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNS GNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSASDHWV FGGGTKLTVL	BCMA-17 scFv (ak)
273	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MSWHRQAPGKGPEWVAHINQDGSEKYYVDSV KGRFTISRDN AESSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RWLAVTNWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSND	BCMA-18 scFv (ak)

	VSWYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGW VFGGGTKLTVL	
274	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTSY YMHWRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQK FQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC ARDGGDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQAVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGDY NYVAWYQQHPGKDPKLMIFEVINRPSGVSDRFS GSKSGNTASLDISGLQPEDEADYYCISYSRGSTP YVIGTGTKVTVL	BCMA-19 scFv (ak)
275	EVQLLES GGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIYADSVK GRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAK GGLGITPYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQPVLTPPSASGTPGQRVTISCSGGKTVN WFRQVPGTAPQLLIYSNDQRPSGVPDRFSGSKSG SSASLDISGLQSEDEAYYYCGSWDDSLNAWVFG GETKLTVL	BCMA-20 scFv (ak)
276	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGGYTEDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQSVLTPPSASGTPGQRVTISCSGSGSNIGSND VSWYQQIPGTAPKLLIYWNDQRPSGVPDRFSGS KSGISASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGY VFGTGTKVTVL	BCMA-21 scFv (ak)
277	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGDYTEDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYN LVSWEYQQPPGKAPKLIHYDVNKRPSGVSNRFSGS KSGNTATLTISGLQGDDEADYYCCSYGGRSYV FGTGTKVTVL	BCMA-22 scFv (ak)

278	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGDYTEDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYN LVSQYQQPPGKAPKLIHYDVNKRPSGVSNRFSGS KSGNTATLTISGLQGDDEADYYCSSYGGSRSYV FGTGTKVTVL	BCMA-23 scFv (ак)
279	VDGDDAFDI	VH-3 CDR-H3 (ак)
280	DPLSWDSSGKGR	VH-4 CDR-H3 (ак)
281	ENYDFWSWRYYYDMDV	VH-5 CDR-H3 (ак)
282	VDGPPSYDI	VH-6 CDR-H3 (ак)
283	GDWDDAFDI	VH-7 CDR-H3 (ак)
284	VDGDYEDY	VH-9 CDR-H3 (ак)
285	DVPSSGDDAFDI	VH-10 CDR-H3 (ак)
286	VDGDDVFDI	VH-11 CDR-H3 (ак)
287	VDGDVAFDI	VH-12 CDR-H3 (ак)
288	DYSIN	BCMA-C1 VH CDR-H1 (ак)
289	NFGMN	BCMA-C2 VH CDR-H1 (ак)
290	WINTETREPAYAYDFRG	BCMA-C1 VH CDR-H2 (ак)
291	WINTYTGESYFADDFKG	BCMA-C2 VH CDR-H2 (ак)
292	DYSYAMDY	BCMA-C1 VH CDR-H3 (ак)
293	GEIYYGYDGGFAY	BCMA-C2 VH CDR-H3 (ак)
294	GYTFTDY	BCMA-C1 VH CDR-H1 (ак) нумерация Chothia
295	GYTFTNF	BCMA-C2 VH CDR-H1 (ак) нумерация Chothia
296	NTETRE	BCMA-C1 VH CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
297	NTYTGE	BCMA-C2 VH CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
298	GYTFTDYSIN	BCMA-C1 VH CDR-H1 (ак) нумерация AbM
299	GYTFTNFGMN	BCMA-C2 VH CDR-H1 (ак)

		нумерация AbM
300	WINTETREPA	BCMA-C1 VH CDR-H2 (ак) нумерация AbM
301	WINTYTGESY	BCMA-C2 VH CDR-H2 (ак) нумерация AbM
302	RASESVTILGSHLIH	BCMA-C1 VL CDR-L1 (ак)
303	RASQDVNTAVS	BCMA-C2 VL CDR-L1 (ак)
304	LASNVQT	BCMA-C1 VL CDR-L2 (ак)
305	SASYRYT	BCMA-C2 VL CDR-L2 (ак)
306	LQSR TIPRT	BCMA-C1 VL CDR-L3 (ак)
307	QQHYSTPWT	BCMA-C2 VL CDR-L3 (ак)
308	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFT	BCMA-C1 VH FR1 (ак)
309	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFT	BCMA-C2 VH FR1 (ак)
310	WVKRAPGKGLKWMG	BCMA-C1 VH FR2 (ак)
311	WVKQAPGKGFKWMA	BCMA-C2 VH FR2 (ак)
312	RFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCAL	BCMA-C1 VH FR3 (ак)
313	RFAFSVETSATTAAYLQINNLKTEDTATYFCAR	BCMA-C2 VH FR3 (ак)
314	WGQGTSVTVSS	BCMA-C1 VH FR4 (ак)
315	WGQGTLVTVSA	BCMA-C2 VH FR4 (ак)
316	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISC	BCMA-C1 VL FR1 (ак)
317	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITC	BCMA-C2 VL FR1 (ак)
318	WYQQKPGQPPTLLIQ	BCMA-C1 VL FR2 (ак)
319	WYQQKPGQSPKLLIF	BCMA-C2 VL FR2 (ак)
320	GVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYC	BCMA-C1 VL FR3 (ак)
321	GVPDRFTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYC	BCMA-C2 VL FR3 (ак)
322	FGGGTKLEIK	BCMA-C1 VL FR4 (ак)
323	FGGGTKLDIK	BCMA-C2 VL FR4 (ак)
324	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSIN WVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRG RFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDY SYAMDYWGQGTSVTVSS	BCMA-C1 VH-цепь (ак)
325	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFG MNWVKQAPGKGFKWMAWINTYTGESYFADDF KGRFAFSVETSATTAAYLQINNLKTEDTATYFCAR	BCMA-C2 VH-цепь (ак)

	GEIYYGYDGGFAYWGQGLVTVSA	
326	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSH LIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGS GSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFG GGTKLEIK	BCMA-C1 VL-цепь (ак)
327	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAV SWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPDRFTGSGS GADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFFGG GTKLDIK	BCMA-C2 VL-цепь (ак)
328	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSH LIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGS GSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFG GGTKLEIKGGGGSGGGSGGGGSIQLVQSGPE LKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGK GLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETS STAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWG QGTSVTVSS	BCMA-C1 VL-VH scFv (ак)
329	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFG MNWVKQAPGKGFKWMWINTYTGESYFADDF KGRFAFSVETSATTAAYLQINNLKTEDTATYFCAR GEIYYGYDGGFAYWGQGLVTVSAGGGGSGGG GSGGGSDVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRAS QDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVP DRFTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHY STPWTFFGGTKLDIK	BCMA-C2 VH-VL scFv (ак)
330	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT GGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCT GTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATG CTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAA AGCTTATGGTGGGACAACAGAATACGCCGCGT CTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGAT GATTCAAAAGCATCGCCTATCTGCAAATGAA CAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATT ACTGTGCGGCCTGGAGTGCCCCGACTGACTAC	BCMA-1 scFv (нт)

	<p>TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC  AGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT  GGCGGTGGCGGATCGGATATTGTGATGACCCA  GTCTCCAGACTCCCTGTCTGTGTCTCCGGGCG  AGAGGGCCACCATCAGCTGCAAGTCCAGCCA  GAGTGTTTTATCCACCTCCAACAATAAGAACT  ATTTAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAG  CCCCCTAGGCTGCTCCTTTACTGGGCATCTACC  CGGGAGGCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGG  CAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA  TCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCGGTT  TATTACTGTCAACAATATTTTCAGTTCTCCGTAC  ACTTTTGGCCACGGGACCAAGCTGGAAATCAA  A</p>	
331	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTT  GGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTION  TACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAA  GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA  GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTG  AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGC  CAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC  TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT  GCGAAAGTGGATGGCCCTCCTTCTTCTGATAT  CTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCT  CAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT  GGCGGTGGCGGATCGGAAATAGTGATGACGC  AGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGG  GAAACAGCCACCCTCCTGCAGGGCCAGTCA  GAGTATTAAGACCAACTTGGCCTGGTACCAGC  AGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC  TATGCTGCATCCACCAGGGCCACTGGCATCCC  AGACAGATTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA  GACTTCACTCTCACCATCACCCAGACTGGAGCC  TGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAAT</p>	BCMA-2 scFv (HT)

	ATGGTAGCTCACCCACTTTTGGCCGGGGGACC AAGCTGGAAATCAA	
332	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT GGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCT GTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATG CTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAA AGCTTATGGTGGGACAACAGAATACGCCGCGT CTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGAT GATTCCAAAAGCATCGCCTATCTGCAAATGAA CAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATT ACTGTGCGGCCTGGAGTGCCCCGACTGACTAC TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC AGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT GGCGGTGGCGGATCGGATATTGTGATGACCCA GTCTCCAGACTCCCTGGTTGTGTCTCTGGGCG AGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCA GAGTGTTTTACACAGCTCCAACAATAAGAATT ACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAG CCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACC CGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGGTTCAGTGG CAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTT TATTACTGTCAGCAGTATTATACTACTCCGCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAAATCA AA	BCMA-3 scFv (HT)
333	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT GGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCT GTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATG CTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAA AGCTTATGGTGGGACAACAGAATACGCCGCGT CTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGAT GATTCCAAAAGCATCGCCTATCTGCAAATGAA CAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATT	BCMA-4 scFv (HT)

	<p>ACTGTGCGGCCTGGAGTGCCCCGACTGACTAC  TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC  AGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT  GGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCA  GTCTCCATCCTCCCTGTCCGCGTCTCTGGGGGA  CAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCGAGTCAGG  ACATTAGGAATTCTTTGGCCTGGTATCAGCAG  AGGCCAGGGAAGCCCCTAAACTCCTGCTTTC  TGCTGCATCCAGATTGGAAAGTGGGGTCCCTT  CTAGGTTCAGTGGCACTACTTCTGGGGCGGAG  TATGCTCTCAGCATCAGCAGCCTGCAGCCTGA  AGATGTCGCATCTTATTTCTGTCAGCAGTATTA  TAGTCTCCCTCTCTCCTTCGGCGGAGGGACCA  AGGTGGAAATCAAA</p>	
334	<p>CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT  GGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATG  CTATGAGCTGGTTCGCGCAGGCTCCAGGGAAG  GGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAA  AGCTTATGGTGGGACAACAGAATACGCCGCGT  CTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGAT  GATTCCAAAAGCATCGCCTATCTGCAAATGAA  CAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATT  ACTGTGCGGCCTGGAGTGCCCCGACTGACTAC  TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC  AGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT  GGCGGTGGCGGATCGGACATCGTGATGACCCA  GTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCG  AGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCA  GAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAACT  ACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAG  CCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACC  CGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGG  CAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA  TCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTT</p>	BCMA-5 scFv (HT)

	TATTACTGTCAGCAATATTATAGTACTCCGTG GACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGATATC AAA	
335	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT GGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCT GTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATG CTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAA AGCTTATGGTGGGACAACAGAATACGCCGCGT CTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGAT GATTCCAAAAGCATCGCCTATCTGCAAATGAA CAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATT ACTGTGCGGCCTGGAGTGCCCCGACTGACTAC TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC AGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT GGCGGTGGCGGATCGGATATTGTGATGACCCA GTCTCCATCGTCCCTGTCTGTGTCTGTAGGAGA GAGAGTCACCATCACTTGTTCGGGCGAGTCAGT CTATAAGTAATTCCTTAGCCTGGTATAAACAG AGACCGGGAGAAGCCCCTAAACTCCTGATACA TGCTGCATCCAATGTGGAAGATGGGGTCCCTT CGAGGTTTCAGCGGCAGGGGATCTGGGACAGTT TTCCTCTCGCCATCAGCAATGTACAGCCTGA AGATTTGCAACTTACTACTGTCAGCAGAGTC ACATGTACCCTCCGACTTTCGGCGGGGGGACC AAGGTGGAAATCAA	BCMA-6 scFv (HT)
336	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT GGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCT GTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATG CTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAA AGCTTATGGTGGGACAACAGAATACGCCGCGT CTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGAT GATTCCAAAAGCATCGCCTATCTGCAAATGAA CAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATT	BCMA-7 scFv (HT)

	<p>ACTGTGCGGCCTGGAGTGCCCCGACTGACTAC  TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC  AGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT  GGCGGTGGCGGATCGGTCATCCAGTTGACCCA  GTCTCCCTCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGGGA  CAGAGTCACCATCACTTGTCTGGGCGAGTCAGG  ACATTGGCGATTATTTAGCCTGGTTTCAGCAG  AGACCAGGGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCTA  TGTTGCGTCCACTTTGCAGAGTGGGGTCCCAT  CAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACACAC  TTCCTCTCACCATCAACAGCCTGCAGCCTGA  AGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATC  ATAGTCACCCGTGGACGTTCCGGCCAGGGACC  AAGGTGGATATCAAA</p>	
337	<p>CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT  GGTACAGCCAGGGCGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTACAGCTTCTGGATTCACCTTTGGTGATTATG  CTATGAGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG  GGGCTGGAGTGGGTAGGTTTCATTAGAAGCAA  AGCTTATGGTGGGACAACAGAATACGCCGCGT  CTGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGAT  GATTCCAAAAGCATCGCCTATCTGCAAATGAA  CAGCCTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTATT  ACTGTGCGGCCTGGAGTGCCCCGACTGACTAC  TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC  AGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT  GGCGGTGGCGGATCGGATATTGTGATGACCCA  GTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCG  AGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCA  GAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAACT  ACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAG  CCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACC  CGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGG  CAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA  TCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTT</p>	BCMA-8 scFv (HT)

	TATTACTGTCAGCAATATTATAGTACTCCGTAC ACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAAATCAA A	
338	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT GGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTACTAC TACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTG AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGC CAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGAGAGTGGACGGTACTACGTCGATGACTA CTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCT CAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT GGCGGTGGCGGATCGTCCTATGAGCTGACTCA GCCGCCCTCGGTGTCTGTGGCCCCAGGACAGA CGGCCAGGGTTACCTGTGGGGCAAATAATATT GGAAGCAAAGTGTCCACTGGTACCAGCAGA AGCCAGGCCAGGCCCCCATGCTGGTCGTCTAT GATGATGACGACCGGCCCTCCGGGATCCCTGA GCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGG CCACCCTGACCATCAGCGGGGTCGAGGCCGGG GATGAGGCCGACTACTTCTGTCACGTGTGGGA TAGAAGTCGTGATCATTATGTCTTCGGAAGT GGACCAAGCTGACCGTCCTA	BCMA-9 scFv (HT)
339	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT GGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTACTAC TACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTG AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGC CAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT	BCMA-10 scFv (HT)

	<p>GCGAGAGTGGACGGTACTACGTCGATGACTA  CTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCT  CAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCT  GGCGGTGGCGGATCGTCCTATGAGCTGACTCA  GCCGCCCTCGGTGTCTGTGGCCCCAGGACAGA  CGGCCAGGGTTACCTGTGGGGCAAATAATATT  GGAAGCAAAAGTGTCCACTGGTACCAGCAGA  AGCCAGGCCAGGCCCCCATGCTGGTTCGTCTAT  GATGATGACGACCGGCCCTCCGGGATCCCTGA  GCGATTCTCTGGCTCCA ACTCTGGGAACACGG  CCACCCTGACCATCAGCGGGGTCGAGGCCGGG  GATGAGGCCGACTACTTCTGTCACGTGTGGGA  TAGAAGTCGTGATCATTATGTCTTCGGA ACTG  GGACCAAGCTGACCGTCCTA</p>	
340	<p>CAGGTGCAGCTGGTACAGTCTGGGGGAGGCTT  GGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATG  CCATGCACTGGGTCCGGCGAGCTCCAGGGAAG  GGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAA  TAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGA  AGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCC  AAGA ACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT  GAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTACTACTGTG  CGAGAGATCTGGGGCCCGACTACGATCCCGAT  GCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGT  CACCGTTTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCG  GAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGCTT  GTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGAC  CCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTG  GAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATGCTGTA  AACTGGTACCAGCAGCTCCAGGAACGGCCCC  CGAAGTCCTCATCTATAATAGTCATCAGCGGC  CCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCC  AAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAA  TGGGCTCCAGTCTGAGGACGAGGCTGATTATT</p>	BCMA-11 scFv (HT)

	ACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAGAGGT TACGTCTTCGGA ACTGGGACCAAGCTCACCGT CCTA	
341	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTT GGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTACTAC TACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTG AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGC CAAGA ACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGAAAGTGGATGGCCCTCCTTCTTTTGATAT CTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCT CAGGTGGAGGCGGTT CAGGCGGAGGTGGCTCT GGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACGCA GCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGA AGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCCGCTCC AACATTGGGAATAATTATGTATCCTGGTACCA ACAGCTCCCAGGAACAGCCCCAAACTCCTCA TTTATGACAATGCTAAGCGACCCTCAGGAATT CCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAC GTCAGCCACCCTGGACATCGCCGGACTCCAGA CTGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTG TGGGATAGTAGTAGTGATCATTGGGTATTCGG CGGAGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	BCMA-12 scFv (HT)
342	CAGATGCAGCTGGTGCAGTATGGGGGAGGCG TGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTAT GCTATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAA GGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATG ATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGTG AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTC CAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCC TGAAAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT	BCMA-13 scFv (HT)

	<p>GCTACCCTACCCGGTAGAGATGGCTACCCCGG  AGCCTTTGACTACAGGGGCCAGGGAACCCTGG  TCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGC  GGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGG  CTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGG  ACCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTT  TGGAAGCGGCTCCAACATCGGAAGTAATGATG  TCTCCTGGTATCAGCAGATCCCAGGAACGGCC  CCCAAACCTCCTCATCTACTGGAATGATCAGCG  GCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGCCT  CCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATC  AGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTA  TACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGGGTG  GTTCTTGGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTC  ACCGTCCTA</p>	
343	<p>GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCGT  GGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTAT  GGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAA  GGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATG  ATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGTG  AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTC  CAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCC  TGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT  GCTACCCTACCCGGTAGAGATGGCTACCCCGG  AGCCTTTGACTACAGGGGCCCGGGAACCCTGG  TCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGC  GGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGG  CTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGG  ACCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTT  TGGAAGCGGCTCCAACATCGGAAGTAATGATG  TCTCCTGGTATCAGCAGATCCCAGGAACGGCC  CCCAAACCTCCTCATCTACTGGAATGATCAGCG  GCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCT  CCAAGTCTGGCGCCTCAGCCTCTCTGGCCATC</p>	BCMA-14 scFv (HT)

	<p>AGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTA  TTATTGTGCAGCATGGGATGACAGGTTGAACG  GTTTTTGGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTC  ACCGTCCTA</p>	
344	<p>CAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCCT  GGTCAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTAT  GGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAA  GGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATG  ATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTG  AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTC  CAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCC  TGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT  GCGAAAGATCAGTATAGCAGTAGCGCACAAA  GGGCCGACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACC  CTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTC  AGGCGGAGGTGGTTCTGGCGGTGGCGGATCGC  AGTCTGTGCTGACGCAGCCACCCTCAGCGTCT  GGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTG  TTCTGGAAGCGGCTCCAACATCGGAAGTAATG  ATGTCTCCTGGTATCAGCAGATCCCAGGAACG  GCCCCAAACTCCTCATCTACTGGAATGATCA  GCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGGTTCTCAG  GCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGTC  ATCAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGA  TTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGA  GTGGTTGGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTG  ACCGTCCTA</p>	BCMA-15 scFv (HT)
345	<p>GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGCCTGAGGT  GAAGAAGCCTGGGACCTCAGTGAAGGTCTCCT  GCAAGGCTTCTGGATTCACCTTTACTAGCTCTG  CTATGCAGTGGGTGCGACAGGCTCGTGGACAA  CGCCTTGAGTGGATAGGATGGATCGTCGTTGG  CAGTGGTAACACAAACTACGCACAGAAGTTCC  AGGAAAGAGTCACCATTACCAGGGACATGTCC</p>	BCMA-16 scFv (HT)

	<p>ACAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCT  GAGATCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTG  CGGCAGCTCCGTATTACGATATTTTACTGGTT  ATTATTTATGGGGCCAGGGAACGCTGGTCACC  GTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGGCGGAGG  TGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCC  TGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCC  GGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTCTGGAAG  CGGCTCCAACATCGGAAGTAATGATGTCTCCT  GGTATCAGCAGATCCCAGGAACGGCCCCCAA  ACTCCTCATCTACTGGAATGATCAGCGGCCCT  CAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAG  TCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGG  GCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTACT  GTGCATCATGGGATGACAGCCTGAGTGGTTGG  GTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCT  A</p>	
346	<p>CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTT  GGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTACTAC  TACATGAGCTGGATCCGCCTGGCTCCAGGGAA  GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA  GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTG  AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGC  CAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC  TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT  GCGAGAGAGGCCGATAGTAGCGCTGACTACT  GGGGCCAGGGAACCCTGGTCAACGTCTCCTCA  GGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTG  GCGGTGGCGGATCGCAGCCTGTGCTGACTCAG  CCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAGAC  GGCCATGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTG  GATTTAAAGGTGTGCAGTGGTACCAGCAGAAG  ACAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCGTCTATGA  TGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGC</p>	BCMA-17 scFv (HT)

	GATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCC ACCCTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGG ATGAGGCCGATTATTACTGTCAGGTGTGGGAT AGTGCTAGTGATCATTGGGTGTTTCGGCGGAGG GACCAAGCTGACCGTCCTA	
347	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTT GGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACGTTTAGTAGCTATT GGATGAGCTGGCACCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCCGGAGTGGGTGGCCACATAAACCAA GACGGAAGTGAGAAGTACTATGTGGACTCTGT GAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACG CCGAGAGTTCACTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTG TGCGAGGTGGCTGGCGGTTACTAACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGA GGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGG CGGATCGCAGTCTGTGTTGACTCAGCCACCCT CAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACC ATCTCTTGTTCTGGAAGCGGCTCCAACATCGG AAGTAATGATGTCTCCTGGTATCAGCAGATCC CAGGGACGGCCCCAAACTCCTCATCTACTGG AATGATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCG ATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTC CCTGGCCATCAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATG AGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGAC AGCCTGAATGGTTGGGTGTTTCGGCGGAGGGAC CAAGCTGACCGTCCTA	BCMA-18 scFv (HT)
348	CAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGT GAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCT GCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGCTAC TATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACA AGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTA ACAGTGGTGGCACAACTATGCACAGAAGTTT CAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGT	BCMA-19 scFv (HT)

	<p>CCATCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGG  CTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTACTG  TGCGAGAGATGGTGGGGACGTCTGGGGCAA  GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGG  CGGTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCG  GATCGCAGGCTGTGCTGACTCAGCCTGCCTCC  GTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCAT  CTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTG  ATTATAACTATGTGCGCTGGTATCAACAACAC  CCAGGCAAAGACCCCAAACACTCATGATTTTGA  GGTCATTAATCGGCCCTCAGGGGTTTCTGATC  GCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCC  TCCCTGGACATCTCTGGGCTCCAGCCTGAGGA  CGAGGCTGATTACTGCATCTCATATTCAC  GAGGCAGCACTCCTTATGTCATCGGAACTGGG  ACCAAGGTGACCGTCCTA</p>	
349	<p>GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTT  GGTACAGCCTGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATG  CCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAG  GGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAA  TAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGA  AGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCC  AAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT  GAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTACTACTGTG  CAAAGGGGGGCCTAGGAATAACCCATACTA  CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCA  CCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGA  GGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGCCTGT  GCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCC  CCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCCGGA  GGCAAGACTGTAAACTGGTTCCGGCAGGTCCC  AGGAACGGCCCCCAACTCCTCATCTATAGTA  ATGATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGA  TTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCTCCTCAGCCTCC</p>	BCMA-20 scFv (HT)

	CTGGACATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTTATTACTGTGGATCATGGGATGACAGCCTCAATGCTTGGGTGTTTCGGCGGAGAGACC AAGCTGACCGTCCTA	
350	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGC CAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAAGTAGACGGAGGCTACACAGAGGACT ACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGTGCTGACTC AGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCGGCTC CAACATCGGAAGTAATGATGTCTCCTGGTATCAGCAGATCCCAGGAACGGCCCCAAACTCCTCATCTACTGGAATGATCAGCGGCCCTCAGGGGT CCCTGACCGGTTCTCAGGCTCCAAGTCTGGCA TCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGCGGGCTCCGG TCCGAGGATGAGGCTGATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTATGTCTTCG GAACTGGGACCAAGGTCACCGTCCTA	BCMA-21 scFv (HT)
351	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGC CAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC	BCMA-22 scFv (HT)

	<p>TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT  GCGAAAGTAGACGGAGACTACACAGAGGACT  ACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCC  TCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTC  TGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTC  AGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG  TCGATCACTATCTCCTGCACTGGAAGCAGCAG  TGATGTTGGCAAATATAATCTTGTCTCCTGGTA  CCAACAGCCCCCAGGCAAAGCCCCCAAGCTCA  TAATTTATGACGTCAATAAGCGGCCCTCAGGG  GTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGC  AACACGGCCACCCTGACAATCTCTGGGCTCCA  GGGTGACGACGAGGCTGATTATTATTGTTGCT  CATATGGAGGTAGTAGGTCTTATGTCTTCGGA  ACTGGGACCAAGGTGACCGTCCTA</p>	
352	<p>GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTT  GGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT  GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTAC  TACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAA  GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA  GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTG  AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGC  CAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC  TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT  GCGAAAGTAGACGGAGACTACACAGAGGACT  ACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCC  TCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGCTC  TGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTC  AGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAG  TCGATCACTATCTCCTGCACTGGAAGCAGCAG  TGATGTTGGCAAATATAATCTTGTCTCCTGGTA  CCAACAGCCCCCAGGCAAAGCCCCCAAGCTCA  TAATTTATGACGTCAATAAGCGGCCCTCAGGG  GTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGC  AACACGGCCACCCTGACAATCTCTGGGCTCCA</p>	BCMA-23 scFv (HT)

	GGGTGACGACGAGGCTGATTATTATTGTAGCT CATATGGAGGTAGTAGGTCTTATGTCTTCGGA ACTGGGACCAAGGTGACCGTCCTA	
353	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> MX <sub>4</sub> X <sub>1</sub> =D или S; X <sub>2</sub> =Y или S; X <sub>3</sub> =A, G, W или Y; X <sub>4</sub> =H, Q или S	Консенсусная CDR-H1
354	X <sub>1</sub> IX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> YX <sub>12</sub> X <sub>13</sub> X <sub>14</sub> X <sub>15</sub> X <sub>16</sub> X <sub>17</sub> X <sub>1</sub> =F, G, H, V, W или Y; X <sub>2</sub> =N, R, S или V; X <sub>3</sub> =P, Q, S, V, W или Y; X <sub>4</sub> =K или отсутствует; X <sub>5</sub> =A или отсутствует; X <sub>6</sub> =D, G, N, S или Y; X <sub>7</sub> =G или S; X <sub>8</sub> =G или S; X <sub>9</sub> =E, G, N, T или S; X <sub>10</sub> =I, K или T; X <sub>11</sub> =E, G, N или Y; X <sub>12</sub> =A или V; X <sub>13</sub> =A, D или Q; X <sub>14</sub> =K или S; X <sub>15</sub> =F или V; X <sub>16</sub> =K или Q; X <sub>17</sub> =E или G	Консенсусная CDR-H2
355	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>13</sub> X <sub>14</sub> X <sub>1</sub> =A, D, E, G, L, V или W; X <sub>2</sub> =A, D, G, L, P, Q или S; X <sub>3</sub> =A, D, G, L или Y; X <sub>4</sub> =D, G, P, R, S, V, Y или отсутствует; X <sub>5</sub> =D, I, P, S, T, Y или отсутствует; X <sub>6</sub> =A, G, I, S, T, V, Y или отсутствует; X <sub>7</sub> =A, D, E, F, L, P, S, Y или отсутствует;	Консенсусная CDR-H3

	<p>X<sub>8</sub>=P, Q, T, Y или отсутствует;  X<sub>9</sub>=D, G, R, Y или отсутствует;  X<sub>10</sub>=A, F, Y или отсутствует;  X<sub>11</sub>=D, F или отсутствует;  X<sub>12</sub>=F или отсутствует;  X<sub>13</sub>=D, T или Y;  X<sub>14</sub>=I, L, N, V или Y</p>	
356	<p>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub> X<sub>15</sub> X<sub>16</sub> X<sub>17</sub>  X<sub>1</sub>=G, K, R, S или T;  X<sub>2</sub>=A, G или S;  X<sub>3</sub>=G, N, S или T;  X<sub>4</sub>=G, K, N, Q, R или S;  X<sub>5</sub>=S или отсутствует;  X<sub>6</sub>=D, N, V или отсутствует;  X<sub>7</sub>=L, V или отсутствует;  X<sub>8</sub>=H, S, Y или отсутствует;  X<sub>9</sub>=S, T или отсутствует;  X<sub>10</sub>=S или отсутствует;  X<sub>11</sub>=D, G, I, N, S или отсутствует;  X<sub>12</sub>=D, E, G, K, I, N или отсутствует;  X<sub>13</sub>=F, G, K, N, R, S, Y или отсутствует;  X<sub>14</sub>=D, K, N, T или отсутствует;  X<sub>15</sub>=A, D, G, L, N, S, T или Y;  X<sub>16</sub>=L или V;  X<sub>17</sub>=A, H, N, Q или S</p>	Консенсусная CDR-L1
357	<p>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>  X<sub>1</sub>=A, D, E, N, S, V или W;  X<sub>2</sub>=A, D, N, S или V;  X<sub>3</sub>=A, D, H, I, N или S;  X<sub>4</sub>=D, K, N, Q, R или T;  X<sub>5</sub>=L, R или V;  X<sub>6</sub>=A, E, P или Q;  X<sub>7</sub>=A, D, S или T</p>	Консенсусная CDR-L2
358	<p>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub> X<sub>1</sub>=A, C, G, H, I, Q  или S; X<sub>2</sub>=A, Q, S или V; X<sub>3</sub>=S, W или Y; X<sub>4</sub>=D, F, G,</p>	Консенсусная CDR-L3

	Н или Y; X <sub>5</sub> =D, G, M, R, S или T; X <sub>6</sub> =A, G, H, L, R, S, T или Y; X <sub>7</sub> =L, P, R, S или отсутствует; X <sub>8</sub> =D, G, N, R, S, T или отсутствует; X <sub>9</sub> =A, G, H, L, P или отсутствует; X <sub>10</sub> =F, S или отсутствует; X <sub>11</sub> =L, P, W или Y; X <sub>12</sub> =S, T или V	
359	GGGGS	4 GS линкер (ак)
360	GGGS	3 GS линкер (ак)
361	GGGSGGGGSGGGGS	(4 GS) <sub>3</sub> линкер (ак)
362	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Линкер (ак)
363	ESKYGPPCPPCP	Спейсер (шарнир IgG4) (ак)
364	gaatctaagtacggaccgcacctgcccccttgcct	Спейсер (шарнир IgG4) (нт)
365	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKLSLSLGK	Спейсер шарнир-CH3 (ак)
366	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGK	Спейсер шарнир-CH2-CH3 (ак)
367	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSNTP PLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIIS LAVFVLMFLLRKISSEPLKDEFKNTGSGLLGMA NIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSK PKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLP AALSATEIEKSISAR	BCMA человека; GenBank № BAF60895.1
368	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSNTP PLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIIS LAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMA NIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSK PKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLP AALSATEIEKSISAR	BCMA человека; NCBI № NP_001183.2

369	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTNP PLTCQRYCNARSGLLGMANIDLEKSRGTGDEIILP RGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDFCFPLPAME EGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR	Вариант ВСМА человека; GenBank № ABN42510.1
370	MAQQCFHSEYFDSLLHACKPCHLRCSNPPATCQ PYCDPSVTSSVKGTYTVLWIFLGLTLVLSLALFTI SFLLRKMNPEALKDEPQSPGQLDGSALDKADT ELTRIRAGDDRIFPRSLEYTVEECTCEDCVKSKP KGDSDFHFFPLPAMEEGATILVTTKTGDYKSSVP TALQSVMGMEKPTHTR	ВСМА мыши; NCBI № NP_035738.1
371	MLQMARQCSQNEYFDSLLHDCCKPCQLRCSSTPP LTCQRYCNASMTNSVKGMINAILWTCLGLSLIISL AVFVLTFLLRKMSSEPLKDEFKNTGSGLLGMAN IDLEKGRGTGDEIVLPRGLEYTVEECTCEDCIKSK PKVDSDFCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCNLSL AALSVTEIEKSISAR	ВСМА яванского макака; GenBank № EHH60172.1
372	GISWNSGSIXYADSVKG	ВСМА-28 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
373	YISGSGSTIYYADSVKG	ВСМА-33 CDR-H2 (ак) нумерация Kabat
374	YISSGNTIYYADSVKG	ВСМА-41 CDR-H2 нумерация Kabat
375	CIPCQLR	Эпитоп ВСМА человека (остатки 21-27)
376	DLGPPYGDDAFDI	ВСМА-24, -28, -29, -39 CDR- H3 (ак)
377	DLDPDDAFDI	ВСМА-30 CDR-H3 (ак)
378	VDGDYDDY	ВСМА-35 CDR-H3 (ак)
379	SNTPLTCQR	Эпитоп ВСМА человека (остатки 30-39)
380	RASQGISNYLA	ВСМА-25 CDR-L1 (ак)
381	RSSQSLLSHNGYNYLD	ВСМА-28 CDR-L1 (ак)
382	TGTSSDVGSYNLVS	ВСМА-29 CDR-L1 (ак)
383	RASQPIRSNLA	ВСМА-30 CDR-L1 (ак)

384	KSSQSVLNSSNNKNYVA	BCMA-31 CDR-L1 (ак)
385	GGNNIGSKGVH	BCMA-32 CDR-L1 (ак)
386	RASQISNYLA	BCMA-34 CDR-L1 (ак)
387	GSSTGVPVTAHSPS	BCMA-36 CDR-L1 (ак)
388	GSSTGAVTNGHSPY	BCMA-37, -38 CDR-L1 (ак)
389	RASQGIRYELX	BCMA-39 CDR-L1 (ак)
390	TGSSSDVSKYNLVS	BCMA-40 CDR-L1 (ак)
391	SGSSSNIGGNSVD	BCMA-41 CDR-L1 (ак)
392	RASQGIGNGLA	BCMA-42 CDR-L1 (ак)
393	SVTNSVK	Эпитоп BCMA человека (остатки 44-50)
394	KSSQNLLYSSNNKNYLA	BCMA-44 CDR-L1 (ак)
395	RASQGIGRSLA	BCMA-45 CDR-L1 (ак)
396	GGNNIGSKSVH	BCMA-47, -48 CDR-L1 (ак)
397	GGDQIGRКСVH	BCMA-49 CDR-L1 (ак)
398	RASQNIGDWLA	BCMA-51 CDR-L1 (ак)
399	WGSTRES	BCMA-24 CDR-L2 (ак)
400	SASTLQS	BCMA-25 CDR-L2 (ак)
401	LGSNRAS	BCMA-28 CDR-L2 (ак)
402	EVSKRPS	BCMA-29 CDR-L2 (ак)
403	SASTRAT	BCMA-30 CDR-L2 (ак)
404	DASNRAT	BCMA-34 CDR-L2 (ак)
405	ETTNRHS	BCMA-36 CDR-L2 (ак)
406	DTTNRHS	BCMA-37 CDR-L2 (ак)
407	DTNNRHS	BCMA-38 CDR-L2 (ак)
408	AASTLQS	BCMA-39 CDR-L2 (ак)
409	ANDRRPS	BCMA-41 CDR-L2 (ак)
410	CSQNEYF	Эпитоп BCMA человека (остатки 8-15)
411	DASSLRS	BCMA-45 CDR-L2 (ак)
412	YDTDRPS	BCMA-47, -48 CDR-L2 (ак)
413	YDSDRPS	BCMA-49 CDR-L2 (ак)
414	GASILES	BCMA-51 CDR-L2 (ак)
415	QQYISLPWT	BCMA-24 CDR-L3 (ак)

416	QQSYTSRQT	BCMA-25 CDR-L3 (ак)
417	MQALQTPPWT	BCMA-28 CDR-L3 (ак)
418	CSYAGSSTS RDV	BCMA-29 CDR-L3 (ак)
419	RHYAPLT	BCMA-30 CDR-L3 (ак)
420	QQRSNWPPYT	BCMA-34 CDR-L3 (ак)
421	HLWDRSRDHVY	BCMA-26, -35 CDR-L3 (ак)
422	LLSSGDARMV	BCMA-36 CDR-L3 (ак)
423	SLSHAGDRVF	BCMA-37 CDR-L3 (ак)
424	LLSYSDARLA	BCMA-38 CDR-L3 (ак)
425	LQHNSYPLT	BCMA-39 CDR-L3 (ак)
426	ESWDDALNGHV	BCMA-41 CDR-L3 (ак)
427	QQYVEDALT	BCMA-42 CDR-L3 (ак)
428	LLHACIPCQLR	Эпитоп BCMA человека (остатки 17-27)
429	QQYYSSPYT	BCMA-44 CDR-L3 (ак)
430	QQLNGYPWT	BCMA-45 CDR-L3 (ак)
431	QLWSDSDDDFA	BCMA-47 CDR-L3 (ак)
432	QVWDSSTGQYVV	BCMA-49 CDR-L3 (ак)
433	QKYDGAPPWT	BCMA-51 CDR-L3 (ак)
434	EVQLLES GGGLVQPGRSLRLSCVASGFTFD	BCMA-27 VH FR1 (ак)
435	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFG	BCMA-30 VH FR1 (ак)
436	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFG	BCMA-25, -31, -44, -51 VH FR1 (ак)
437	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	BCMA-32, -49 VH FR1 (ак)
438	TGQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD	BCMA-34 VH FR1 (ак)
439	EVQLLES GGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFG	BCMA-42 VH FR1 (ак)
440	agctatgagctgacacagcctccaagcgcctctggcacacctgg acagcgagtgacaatgagctgtagcggcaccagcagcaacatcggcagc cacagcgtgaactggatcagcagctgcctggcacagcccctaaactctg atctacaccaacaaccagcggcctagcggcgtgccgatagattttctggca gcaagagcggcacaagcggcagcctggctatttctggactgcagagcgag gacgaggccgactattattgtgccgcctgggacggctctctgaacggccttg ttttggcggaggaccaagctgacagtctgggatctagaggtggcggag gatctggcggcggagggaagcggaggcggcgatctcttgaatggctgaa	BCMA-52 scFv (HT) (O/ЭСС)

	gtgcagctggtgcagctctggcgccgaagtgaagaagcctggcgagagcct gaagatcagctgcaaaggcagcggctacagcttcaccagctactggatcg gctgggtccgacagatgcctggcaaaggccttgagtgatgggcatcatct accccgccgacagcagaccagatacagccctagctttcagggccacgtg accatcagcggcacaagtctatcagcaccgcctacctgcagtggccagc ctgaaggcctctgacaccgcatgtactactgcgccagatactctggcagct tcgacaattggggccagggcacactggtcaccgtgtccagc	
441	RFTISRDNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR	BCMA-37 VH FR3 (AK)
442	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIG SHSVNWFYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRF SGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDGSL NGLVFGGGTKLTVLGSRGGGSGGGGSGGGGS LEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSP SFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY CARYSGSFDNWGQGTLVTVSS	BCMA-52 scFv (AK)
443	DSPSPGTTPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	BCMA-47 VH FR3 (AK)
444	GGQGMVTVSS	BCMA-28 VH FR4 (AK)
445	WRQGMVTVSS	BCMA-47 VH FR4 (AK)
446	DIQMTQSPAFLSASVGDRVTVC	BCMA-25 VL FR1 (AK)
447	DIVMTQSPLSLVTPGEPASISC	BCMA-28 VL FR1 (AK)
448	QPVLTPASVSGSPGQSITISC	BCMA-29 VL FR1 (AK)
449	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSC	BCMA-30 VL FR1 (AK)
450	DVVMVTQSPDSLAVSLGERATISC	BCMA-31 VL FR1 (AK)
451	QTVVTQPPSVSVAPGQTARITC	BCMA-32 VL FR1 (AK)
452	EIVMTQSPATLSLSPGDRATLSC	BCMA-34 VL FR1 (AK)
453	NFMLTQPPSVSVAPGQTARITC	BCMA-35 VL FR1 (AK)
454	QSVLTQEPSLTVSPGETVTLTC	BCMA-36 VL FR1 (AK)
455	QLVLTQEPSLTVSPGGTVTLTC	BCMA-37 VL FR1 (AK)
456	QAVLTQEPSLTVSPGGTVTLTC	BCMA-38 VL FR1 (AK)
457	DIQXTQSPSSLSASVGDRVTITC	BCMA-39 VL FR1 (AK)
458	QPVLTPPPSVSGTPGQRVTIPC	BCMA-41 VL FR1 (AK)
459	DIQMTQSPSLVSASVGDRVTITC	BCMA-42 VL FR1 (AK)
460	cagtctgcctgacacagcctgccagcgttagtgctagtcccgacagtcta	BCMA-55 scFv (HT)

	tcgcatcagctgtaccggcaccagctctgacgttggtggtatcagcagca ccctggcaaggcccctaagctgatgatctacgaggacagcaagaggcca gcggtgtccaatagattcagcggcagcaagagcggcaacaccgcca cctgacaattagcggactgcaggccgaggacgaggccgattactactgca gcagcaacacccgggtccagcacactggttttggcggaggccaagctg acagtgtgggatctagaggtggcggaggatctggcggcggagggaagcg gaggcggcggatctcttgaatggctgaagtgcagctggtgcagtctggcg ccgatgaagaaacctggcgcctctctgaagtgcagctgcaaggccagc ggctacaccttcatcgactactacgtgtactggatcggcaggcccctggac agggactcgaatctatgggctggatcaacccaatagcggcggcacaatt acggccagaaattccagggcagagtgacctgaccagagacaccagcatc agcaccgctacatggaactgagccggctgagatccgacgacaccgcat gtactactgcgccagatctcagcgcgacggctacatggattattggggcca gggaaccctggtcaccgtgtccagc	(O/3CC)
461	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINC	BCMA-44 VL FR1 (ак)
462	AIRMTQSPSSLSASVGDRVITIC	BCMA-45 VL FR1 (ак)
463	QAVLTQPPSVSVAPGKTATITC	BCMA-47 VL FR1 (ак)
464	QPVLTQPPSVSVAPGKTATITC	BCMA-48 VL FR1 (ак)
465	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITC	BCMA-49 VL FR1 (ак)
466	AIQLTQSPSTLSASVGDRVAITC	BCMA-51 VL FR1 (ак)
467	WYQQKPGNAPRLLIY	BCMA-25 VL FR2 (ак)
468	WYLQKPGQSPQLLIY	BCMA-28 VL FR2 (ак)
469	WYQQHPGKAPKLMIIY	BCMA-29 VL FR2 (ак)
470	WYQQKPGQAPKLLIY	BCMA-30 VL FR2 (ак)
471	WYKQKPGQPPKLVIS	BCMA-31 VL FR2 (ак)
472	WYRQRPGQAPEVVIY	BCMA-32 VL FR2 (ак)
473	WFQKKPGQAPTTLIY	BCMA-36 VL FR2 (ак)
474	WFQQKPGQAPRTLIY	BCMA-37, -38 VL FR2 (ак)
475	WYQQKPGKAPKLLIY	BCMA-39 VL FR2 (ак)
476	WFQEVPGTAPKLLIY	BCMA-41 VL FR2 (ак)
477	WYQQKPGKAPKLLLF	BCMA-42 VL FR2 (ак)
478	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQ HPGKAPKLMIIYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTAS LTISGLQAEDEADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLT	BCMA-55 scFv (ак)

	VLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSG AEMKKPGASLKLSCASGYTFIDYYVYWMRQA PGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTR DTSISTAYMELSRRLSDDTAMYCCARSQRDGY MDYWGQGTLVTVSS	
479	WYKQKPGGVPQLLIH	BCMA-45 VL FR2 (ак)
480	WYQRKPGQGPVVVIQ	BCMA-47, -48 VL FR2 (ак)
481	WYQQKPGQAPVLVMS	BCMA-49 VL FR2 (ак)
482	WYQQKPGKAPKLLIF	BCMA-51 VL FR2 (ак)
483	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIYHC	BCMA-24 VL FR3 (ак)
484	GVPSRFRGTGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYC	BCMA-25 VL FR3 (ак)
485	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYC	BCMA-28 VL FR3 (ак)
486	GVSNRFSGSKSGNTASPTISGLQAEDVADYYC	BCMA-29 VL FR3 (ак)
487	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEHEDFAVYYR	BCMA-30 VL FR3 (ак)
488	GVPDRFSGSNSGNTATLTVRGVEAGDEADYYC	BCMA-32 VL FR3 (ак)
489	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC	BCMA-34 VL FR3 (ак)
490	WTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEADYYC	BCMA-36 VL FR3 (ак)
491	WTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYC	BCMA-37 VL FR3 (ак)
492	WTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEADYFC	BCMA-38 VL FR3 (ак)
493	GVPSRFSGSGSGTDFALTIRSLQPEDFATYYC	BCMA-39 VL FR3 (ак)
494	GVPDRFSGTKSGTSASLAIRGLQSDDDAHYYC	BCMA-41 VL FR3 (ак)
495	GVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLQPEDVATYYC	BCMA-42 VL FR3 (ак)
496	gaggtgcagctggtgcagtctggagcagagtgaaaaagcccg gggagctctgaagatctctgtaagggtctggatacagcttaccagctact ggatcggctgggtgcgccagatgcccgggaaaggcctggagtggatggg gatcatctatcctggtgactctgataccagatacagcccgtcctccaaggcc acgtcaccatctcagctgacaagtccatcagcactgcctacctgcagtggag cagcctgaaggcctcggacaccgccatgtattactgtgcgcgctactctggt tcttcgataactgggtcaaggactctggtgacctctcctcagc	BCMA-52 VH-цепь (нт)
497	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISGVQSEDSATYHC	BCMA-45 VL FR3 (ак)
498	GIPERFSGSKSGDTASLTISGVEAGDEADYYC	BCMA-47 VL FR3 (ак)
499	GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEGDYYC	BCMA-48 VL FR3 (ак)
500	GIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAAYYC	BCMA-49 VL FR3 (ак)
501	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVAVYYC	BCMA-51 VL FR3 (ак)

502	FGPGTRLDIK	BCMA-25 VL FR4 (ак)
503	FGXGTKLTVL	BCMA-29 VL FR4 (ак)
504	FGQGTKLDIK	BCMA-31, -34 VL FR4 (ак)
505	FGTGTKLDIK	BCMA-35 VL FR4 (ак)
506	FGGGTKVDIK	BCMA-42 VL FR4 (ак)
507	SYWIG	BCMA-52 CDR-H1 (ак) - нумерация Kabat
508	FGQGTKVEIK	BCMA-24, -28, -51 VL FR4 (ак)
509	GFTFGDYAMH	BCMA-30 CDR-H1 (ак) нумерация AbM
510	GISWNSGSIX	BCMA-28 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
511	YISGSGSTIY	BCMA-33 CDR-H2 (ак) нумерация AbM
512	YISSGNTIY	BCMA-41 CDR-H2 нумерация AbM
513	IIYPGDS DTRYSPSFQG	BCMA-52 CDR-H2 (ак) - нумерация Kabat
514	SWNSG	BCMA-28 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
515	SGSGST	BCMA-33 CDR-H2 (ак) нумерация Chothia
516	SSSGNT	BCMA-41 CDR-H2 нумерация Chothia
517	YSGSFDN	BCMA-52 CDR-H3 (ак) - Kabat, Chothia и нумерация AbM
518	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKG RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD LGPPYGDDAFDIWGQGMVTVSS	BCMA-24 VH-цепь (ак)
519	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS	BCMA-25, -31, -44, -51 VH- цепь (ак)

	VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSS	
520	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCVASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAK GGLGITPYFFDYWGQGLVTVSS	BCMA-27 VH-цепь (ак)
521	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIXYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPPYGDDAFDIGGQGMVTVSS	BCMA-28 VH-цепь (ак)
522	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPPYGDDAFDIWGQGMVTVSS	BCMA-29, -39 VH-цепь (ак)
523	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFGDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLDPDDAFDIWGQGMVTVSS	BCMA-30 VH-цепь (ак)
524	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGQGMVTVSS	BCMA-32, -49 VH-цепь (ак)
525	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISGSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARE ADSSADYWGQGLVNVSS	BCMA-33 VH-цепь (ак)
526	TGQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPDYDPDAFDIWGQGMVTVSS	BCMA-34 VH-цепь (ак)
527	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV DGDYDDYWGQGLVTVSS	BCMA-35 VH-цепь (ак)

528	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV DGDYVDDYWGQGLVTVSS	BCMA-36, 38 VH-цепь (ак)
529	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNAKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV DGDYVDDYWGQGLVTVSS	BCMA-37 VH-цепь (ак)
530	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTIYYADSVKG RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGDYVDDYWGQGLVTVSS	BCMA-41 VH-цепь (ак)
531	EVQLLES GGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSS	BCMA-42 VH-цепь (ак)
532	GYSFTSY	BCMA-52 CDR-H1 (ак) - нумерация Chothia
533	QVQLLES GGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG DSPSPGTTPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWRQGTMTVTVSS	BCMA-47 VH-цепь (ак)
534	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWGSTRESGVPD RFGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIYHCQQYISLP WTFGQGTKVEIK	BCMA-24 VL-цепь (ак)
535	DIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTCRASQGISNYLA WYQQKPGNAPRLLIYSASTLQSGVPSRFRGTGY GTEFSLTIDSLQPEDFATYYCQQSYTSRQTFGPG TRLDIK	BCMA-25 VL-цепь (ак)
536	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVHW YQQKPGQAPMLVVYDDDDRPSGIPERFSGSNSG NTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHVYVFG TGTKLTVL	BCMA-26 VL-цепь (ак)

537	DIVMTQSPLSLSVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGY NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDFRS GSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCMQALQTPP WTFGQGTKVEIK	BCMA-28 VL-цепь (ак)
538	QPVLTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLV SWYQQHPGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSK SGNTASPTISGLQAEDEADYYCCSYAGSSTSRDV FGXGTKLTVL	BCMA-29 VL-цепь (ак)
539	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQPIRSNLAW YQQKPGQAPKLLIYSASTRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEHEDFAVYYRRHYAPLTFGGGKVE IK	BCMA-30 VL-цепь (ак)
540	DVVMTPDPSLAVSLGERATISCKSSQSVLNSSN NKNYVAWYKQKPGQPPKLVISWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYST PYTFGQGTKLDIK	BCMA-31 VL-цепь (ак)
541	QTVVTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKGVH WYRQRPGQAPEVVIYDDSDRPSGVPDRFSGSNS GNTATLTVRGVEAGDEADYYCQVWDSSSDHW VFGGGTKLTVL	BCMA-32 VL-цепь (ак)
542	EIVMTQSPATLSLSPGDRATLSCRASQISNYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPYTFGQ GTKLDIK	BCMA-34 VL-цепь (ак)
543	NFMLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSVH WYQQKPGQAPMLVYDDEDRPSGIPERFSGSNS GNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHVVF GTGTKLDIK	BCMA-35 VL-цепь (ак)
544	QSVLTQEPSLTVSPGETVTLTCGSSTGPV TSAHSP SWFQKKPGQAPTTLIYETTNRHSWTPARFSGSLL GGKAALTLGAQPEDEADYYCLLSSGDARMVF GGGTKLTVL	BCMA-36 VL-цепь (ак)
545	QLVLTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTNGHS PYWFQKPGQAPRTLIYDTTNRHSWTPARFSGS	BCMA-37 VL-цепь (ак)

	LLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCSLSHAGDRVF FGGGTKLTVL	
546	QAVLTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTNGHS PYWFQKPGQAPRTLIIYDTNNRHSWTPARFSGS LLGGKAALTLGAQPEDEADYFCLLSYSDARLA FGGGTKLTVL	BCMA-38 VL-цепь (ак)
547	DIQXTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRYELX WYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGS GTDFALTIRSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGRG TKLEIK	BCMA-39 VL-цепь (ак)
548	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVSKYNLV SWYQQPPGKAPKLIYDVNKRPSGVSNRFSGSKS GNTATLTISGLQGDDEADYYCCSYGGSRSYVFG TGTKLTVL	BCMA-40 VL-цепь (ак)
549	QPVLTPPSVSGTPGQRVTIPCSGSSNIGGNSVD WFQEVPGTAPKLLIYANDRRPSGVPDRFSGTKS GTSASLAIRGLQSDDDAHYYCESWDDALNGHV FGGGTKLTVL	BCMA-41 VL-цепь (ак)
550	DIQMTQSPSLVSASVGDRVTITCRASQGIGNGLA WYQQKPGKAPKLLIFAASRLESGVPSRFSGSRS GTDYTLTISSLQPEDVATYYCQYVEDALTFGG GTKVDIK	BCMA-42 VL-цепь (ак)
551	YPGDS	BCMA-52 CDR-H2 (ак) - нумерация Chothia
552	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQNLLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYSS PYTFGQGTKLEIK	BCMA-44 VL-цепь (ак)
553	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGRSLA WYKQKPGGVPQLLIHDASSLRSGVPSRFSGSGSG TEFTLTISGVQSEDSATYHCQQLNGYPWTFGQG TKVDIK	BCMA-45 VL-цепь (ак)
554	QAVLTQPPSVSVAPGKTATITCGGNNIGSKSVH WYQRKPGQGPVVVIQYDTRPSGIPERFSGSKSG	BCMA-47 VL-цепь (ак)

	DTASLTISGVEAGDEADYYCQLWDSDSDDFAFG TGKLTVL	
555	QPVLTPPSVSVAPGKTATITCGGNNIGSKSVHW YQRKPGQGPVVVIQYDTRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEGDYYCQVWDSSSDHWVFG GGTKLTVL	BCMA-48 VL-цепь (ак)
556	LPVLTPPSVSVAPGKTARITCGGDQIGRKSVDHW YQQKPGQAPVLVMSYDSDRPSGIPERFSGSNSG NTATLTISRVEAGDEAAYYCQVWDSSTGQYVVF GGGTKLTVL	BCMA-49 VL-цепь (ак)
557	AIQLTQSPSTLSASVGDRVAITCRASQNIGDWLA WYQQKPGKAPKLLIFGASILESGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDVAVYYCQKYDGAPPWTFGQ GTKVEIK	BCMA-51 VL-цепь (ак)
558	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD LGPPYGDDAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQS VLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWGSTR ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIYHCQ QYISLPWTFGQGTKVEIK	BCMA-24 scFv последовательность (ак)
559	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTCRASQGISN YLAWYQQKPGNAPRLLIYSASTLQSGVPSRFRG TGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYCQQSYTSRQTF GPGTRLDIK	BCMA-25 scFv последовательность (ак)
560	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSV	BCMA-26 scFv последовательность (ак)

	HWYQQKPGQAPMLVYDDDDRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHY VFGTGTKLTVL	
561	EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCVASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAK GGLGITPYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQPVLTPPSASGTPGQRVTISCSGGKTVN WFRQVPGTAPQLLIYSNDQRPSGVPDRFSGSKSG SSASLDISGLQSEDEAYYYCGSWDDSLNAWVFG GETKLTVL	BCMA-27 scFv последовательность (ак)
562	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIXYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPPYGDDAFDIGGQGMVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIVMTQSPLSLVTPGEPASISCRSSQS LLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS GVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCM QALQTPPWTFGQGTKVEIK	BCMA-28 scFv последовательность (ак)
563	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPPYGDDAFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSD VGSYNLVSQYQHPGKAPKLMYEVSKRPSGVS NRFSGSKSGNTASPTISGLQAEDEADYYCCSYAG SSTSRDVFVGXGTKLTVL	BCMA-29 scFv последовательность (ак)
564	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFGDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLDPDDAFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSEIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQPIRS NLAWYQQKPGQAPKLLIYASSTRATGIPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEHEDFAVYYRRHYAPLTFGGG TKVEIK	BCMA-30 scFv последовательность (ак)

565	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSVLN SSNNKNYVAWYKQKPGQPPKLVISWASTRESG VPDRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQY YSTPYTFGQGTKLDIK	BCMA-31 последовательность (ак)	scFv
566	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQTVVTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKGV HWYRQRPQAPEVVIYDDSDRPSGVPDRFSGSN SGNTATLTVRGVEAGDEADYYCQVWDSSSDHW VFGGGTKLTVL	BCMA-32 последовательность (ак)	scFv
567	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISGSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARE ADSSADYWGGTLVNVSSGGGGSGGGGSGGGG SQPVLTPPPSVSVAPGKTAMITCGGNNIGFKGVQ WYQQKTGQAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNS GNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSASDHWV FGGGTKLTVL	BCMA-33 последовательность (ак)	scFv
568	TGQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPDYDPDAFDIWGGTMVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGDRTLSCRASQ SISNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPAR FSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP PYTFGQGTKLDIK	BCMA-34 последовательность (ак)	scFv
569	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV	BCMA-35 последовательность (ак)	scFv

	DGDYDDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSNFMLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSV HWYQQKPGQAPMLVVYDDDDRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHY VFGTGTKLDIK	
570	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV DGDYVDDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSQSVLTQEPSLTVSPGETVTLTCGSSTGPVTS AHSPSWFQKPGQAPTTLIYETTNRHSWTPARFS GSELLGGKAALTLGAQPEDEADYYCLLSSGDAR MVFGGGTKLTVL	BCMA-36 scFv последовательность (ак)
571	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKSSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV DGDYVDDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSQVLTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTN GHSPYWFQKPGQAPRTLIYDTTNRHSWTPARF SGSELLGGKAALTLGAQPEDEAEYYCSLSHAGD RVFFGGGTKLTVL	BCMA-37 scFv последовательность (ак)
572	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV DGDYVDDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSQAVLTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTN GHSPYWFQKPGQAPRTLIYDTNNRHSWTPARF SGSELLGGKAALTLGAQPEDEADYFCLLSYSDA RLAFGGGTKLTVL	BCMA-38 scFv последовательность (ак)
573	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLGPPYGDDAFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIQXTQSPSSLASVGDRTITCRASQ GIRYELXWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPS	BCMA-39 scFv последовательность (ак)

	RFSGSGSGTDFALTIRSLQPEDFATYYCLQHNSY PLTFGRGTKLEIK	
574	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGDYTEDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVSKYN LVSQYQQPPGKAPKLIHYDVNKRPSGVSNRFSGS KSGNTATLTISGLQGDDEADYYCCSYGGRSYV FGTGTKLTVL	BCMA-40 scFv последовательность (ак)
575	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGDYVDDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGG GGSQPVLTPPSVSGTPGQRVTIPCSGSSSNIGGN SVDWFQEVPGTAPKLLIYANDRRPSGVPDRFSG TKSGTSASLAIRGLQSDDDAHYYCESWDDALNG HVFGGGTKLTVL	BCMA-41 scFv последовательность (ак)
576	EVQLLES GGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDIQMTQSPSLVSASVGDRVTITCRASQGIGN GLAWYQQKPGKAPKLLLF AASRLESGVPSRFSG SRSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQQYVEDALTF GGGTKVDIK	BCMA-42 scFv последовательность (ак)
577	GYSFTSYWIG	BCMA-52 CDR-H1 (ак) - нумерация AbM
578	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGG GGSDVVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQNLL YSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQY	BCMA-44 scFv последовательность (ак)

	YSSPYTFGQGTKLEIK		
579	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSAIRMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIGRS LAWYKQKPGGVPQLLIHDASSLRSGVPSRFSGS GSGTEFTLTISGVQSEDSATYHCQQLNGYPWTF GQGTKVDIK	BCMA-45	scFv последовательность (ак)
580	QVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG DSPSPGTTPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWRQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQAVLTQPPSVSVAPGKTATITCGGNNIGSKSV HWYQRKPGQGPVVVIQYDTRPSGIPERFSGSKS GDTASLTISGVEAGDEADYYCQLWSDSDDFAF GTGTKLTVL	BCMA-47	scFv последовательность (ак)
581	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQPVLTPPPSVSVAPGKTATITCGGNNIGSKSV HWYQRKPGQGPVVVIQYDTRPSGIPERFSGSNS GNTATLTISRVEAGDEGDYYCQVWDSSSDHWV FGGGTKLTVL	BCMA-48	scFv последовательность (ак)
582	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV DGPPSFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSLPVLTPPPSVSVAPGKTARITCGGDQIGRKS VHWYQQKPGQAPVLMVSYDSDRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRVEAGDEAAYYCQVWDSSTGQYV VFGGGTKLTVL	BCMA-49	scFv последовательность (ак)
583	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA MSWFRQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS	BCMA-51	scFv последовательность (ак)

	VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC AAWSAPTDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSAIQLTQSPSTLSASVGDRVAITCRASQNIGD WLAWYQQKPGKAPKLLIFGASILESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDVAVYYCQKYDGAPPWT FGQGTKVEIK	
584	CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGGAGGCTT GGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCT GTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGA CTAC TACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTA GTGGTAATACCATATACTACGCAGACTCTGTA AAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGC CAAAA ACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCC TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGAAAGTGGACGGTGA CTACGTCGATGACTA CTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCT CAGGTGGAGGCGGTT CAGGCGGAGGTGGCTCT GGCGGTGGCGGATCGCAGCCTGTGCTGACTCA GCCACCCTCAGTGTCTGGGACCCCCGGGCAGA GGGTCACCATCCCTTGTTCTGGAAGCAGCTCC AACATCGGAGGTA ACTCTGTAGACTGGTTCCA GGAGGTCCCAGGGACGGCCCCCAA ACTCCTCA TCTACGCTAATGATCGGCGGCCCTCGGGTGTC CCTGACCGCTTCTCTGGCACCAAGTCGGGCAC CTCAGCCTCCCTGGCCATCAGGGGGCTCCAGT CTGACGATGACGCTCATTACTGTGAATCC TGGGACGATGCCCTGAACGGTCACGTGTTCCG CGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	BCMA-41 scFv последовательность (нт)
585	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSIN WVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRG RFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALDY SYAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPPSLAMS LGKRATISCRASESVTILGSH LIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGV PARFSGS	BCMA-C1 VH-VL scFv (ак)

	GSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFG GGTKLEIK	
586	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAV SWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPDRFTGSGS GADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFFG GTKLDIKGGGSGGGGSGGGGSIQLVQSGPDL KKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGK GFKWMAWINTYTGESYFADDFKGRFAFSVETSA TTAYLQINNLKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGF AYWGQGTLVTVSA	BCMA-C2 VL-VH scFv (ак)
587	IYPGDSSTR	BCMA-52 CDR-H2 (ак) - нумерация AbM
588	gaagtgcagctggtgcagctctggcgccgaagtgaagaagcctggcgaga gcctgaagatcagctgcaaaggcagcggctacagctcaccagctactgga tcggctgggtccgacagatgcctggcaaaggccttgagtggatgggcatca tctacccggcgacagcgacaccagatacagccctagcttcagggccac gtgaccatcagcggcacaagtctatcagcaccgctacctgcagtgtcc agcctgaaggcctctgacaccgcatgtactactgcgccaatactctggca gcttcgacaattggggccaggccacactggcaccgtgtccagc	BCMA-52 VH-цепь (нт) (O/ЭСС)
589	SGTSSNIGSHSVN	BCMA-52 CDR-L1 (ак) - нумерация Kabat, Chothia и AbM
590	TNNQRPS	BCMA-52 CDR-L2 (ак) - нумерация Kabat, Chothia и AbM
591	AAWDGSLNGLV	BCMA-52 CDR-L3 (ак) - нумерация Kabat, Chothia и AbM
592	tcctatgagctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagag ggcaccatgtcttgttctggaaccagctccaacatcggaagtactctgaa actggtaccagcagctcccaggaacggccccaaactcctcatctatactaa taatcagcggcctcaggggtccctgaccgattctctggctccaagtctggc acctcagcctccctggccatcagtgccctccagtctgaggatgaggctgatt attactgtgcagcatgggatggcagcctgaatggctctggtattcggcggagg	BCMA-52 VL-цепь (нт)

	gaccaagctgaccgtcctaggt	
593	DYYVY	BCMA-55 CDR-H1 (ак) - нумерация Kabat
594	WINPNSGGTNYAQKFQG	BCMA-55 CDR-H2 (ак) - нумерация Kabat
595	SQRDGYMDY	BCMA-55 CDR-H3 (ак) - нумерация Kabat, Chothia и AbM
596	GYTFIDY	BCMA-55 CDR-H1 (ак) - нумерация Chothia
597	NPNSGG	BCMA-55 CDR-H2 (ак) - нумерация Chothia
598	GYTFIDYYVY	BCMA-55 CDR-H1 (ак) - нумерация AbM
599	WINPNSGGTN	BCMA-55 CDR-H2 (ак) - нумерация AbM
600	agctatgagctgacacagcctccaagcgctctggcacacctggacagcg agtgacaatgagctgtagcggcaccagcagcaacatcggcagccacagc gtgaactggatcagcagctgcctggcacagcccctaaactgctgatctaca ccaacaaccagcggcctagcggcgtgcccgatagattttctggcagcaaga gcggcacaagcggcagcctggctatttctggactgcagagcgaggacgag gccgactattattgtcccgcctgggacggctctctgaacggcctgttttggc ggaggcaccaagctgacagtctggga	BCMA-52 VL-цепь (нт) (O/ЭСС)
601	TGTSSDVG	BCMA-55 CDR-L1 (ак) - нумерация Kabat, Chothia и AbM
602	EDSKRPS	BCMA-55 CDR-L2 (ак) - нумерация Kabat, Chothia и AbM
603	SSNTRSSTLV	BCMA-55 CDR-L3 (ак) - нумерация Kabat, Chothia и AbM
604	GYSFTSYW	BCMA-52 CDR-H1 (ак)
605	IYPGSDST	BCMA-52 CDR-H2 (ак)

606	ARYSGSFDN	BCMA-52 CDR-H3 (ак)
607	SSNIGSHS	BCMA-52 CDR-L1 (ак)
608	TNN	BCMA-52 CDR-L2 (ак)
609	EVQLVQSGAEVKKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWI GWVVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQG HVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCYARY SGSFDN WGQGTLVTVSS	BCMA-52 VH-цепь (ак)
610	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSV NWyQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSK SGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDGSLNGLV FGGGTKLTVLG	BCMA-52 VL-цепь (ак)
611	GYTFIDYY	BCMA-55 CDR-H1 (ак)
612	INPNSGGT	BCMA-55 CDR-H2 (ак)
613	ARSQRDGYMDY	BCMA-55 CDR-H3 (ак)
614	ISCTGTSSD	BCMA-55 CDR-L1 (ак)
615	EDS	BCMA-55 CDR-L2 (ак)
616	tcaattggtacgtgg	Предсказанный сайт донора сплайсинга
617	EVQLVQSGAEMKKPGASLKL SCKASGYTFIDYY VYWMRQAPGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKF QGRVTMTRDTSISTAYMEL SRLRSDDTAMYCYA RSQRDGYMDYWGQGTLVTVSS	BCMA-55 VH-цепь (ак)
618	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQ HPGKAPKLMYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTAS LTISGLQAEDEADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLT VLG	BCMA-55 VL-цепь (ак)
619	atggtgctgcagaccaggtgttcacagcctgctgctggtatctccggag catacgga	Сигнальная последовательность IgG- каппа человека (нт)
620	MVLQTQVFISLLLWISGAYG	Сигнальный пептид IgG- каппа человека (ак)
621	gaatctaagtacggaccgccctgccctcctgccctgctcctcctgtggctg gaccaagcgtgttctgtttccacctaagcctaaagatacctgatgattccc gcacacctgaagtgactgcgtggctggtgacgtgagccaggaggatcca	Спейсер шарнир IgG4/IgG2 - CH2 IgG2/IgG4 - CH3 IgG4 (нт)

	<p>gaagtgcagttcaactggtacgtggacggcgtggaagtccacaatgctaag  actaaaccccgagaggaacagtttcagtcaactaccgggtcgtgagcgtg  ctgaccgtcctgcatcaggattggctgaacgggaaggagtataagtcaaa  gtgtctaataagggactgcctagctccatcgagaaaacaattagtaaggcaa  aagggcagcctcgagaaccacaggtgtataacctgccccctagccaggag  gaaatgaccaagaaccaggtgtccctgacatgtctggtcaaaggcttctatc  caagtgacatcgccgtggagtgggaatcaaatgggcagcccgagaacaat  tacaagaccacaccacctgctggactctgatggaagtttcttctgtattcc  aggctgaccgtggataaatctcgtggcaggagggaacgtgttctcttga  gtgtcatgcacgaagccctgcacaatcattatacacagaagtcactgagcct  gtccctgggcaaa</p>	
622	<p>gagtctaaatacggaccgcttctcctctgtcccgtcctcctgttgccgg  accttccgtgttctcttctcctcaaaagcctaaggacacctgatgatcagca  ggaccctgaagtgacctgctgggtggatgtgtccaagaggatcccg  aggtgcagttcaactggtatgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaag  accaagcctagagaggaacagttccagagcacctacagagtgggtgccgt  gctgacagtgctgcaccaggattggctgaacggcaagagtacaagtgca  aggtgtccaacaagggcctgcctagcagcatcgagaaaacctctccaag  gccaagggccagccaagagagccccaggtttacactgcctccaagcca  agaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcctggtcaagggtt  ctaccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgaga  acaactacaagaccacacctctgtgctggacagcagcggcagtttcttct  gtatagtagactaccgtggataaatcaagatggcaagagggaacgtgttc  agctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaaaag  cctgagcctgtctctgggcaag</p>	<p>Оптимизированный спейсер,  ЭСС, шарнир IgG4/IgG2 -  CH2 IgG2/IgG4 - CH3 IgG4  (нт)</p>
623	<p>atgttttgggtgctggtcgtggtcggaggggtgctggcctgttacagcctgct  ggtgacagtcgctttcatcatcttctgggtg</p>	<p>Трансмембранный домен  CD28 (нт)</p>
624	<p>MFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV</p>	<p>Трансмембранный домен  CD28 (ак)</p>
625	<p>aagcgggggagaaagaactgctgtatatttcaaacagcccttatgagac  ctgtgcagactaccagaggaagacggatgcagctgtaggtttcccgag  gaagaggaaggaggctgtgagctg</p>	<p>Полученная из 4-1BB  внутриклеточная ко-  сигнальная  последовательность (нт)</p>
626	<p>KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE  EEEEGGCEL</p>	<p>Полученная из 4-1BB  внутриклеточная ко-</p>

		сигнальная последовательность (ак)
627	agagtcaagttttccaggtccgccgacgctccagcctaccagcaggggca gaaccagctgtacaacgagctgaacctgggcagaagggaagagtagcac gtcctggataagcggagaggccggaccctgagatgggcggaagcctc ggcggagaacccccaggaaggcctgtataacgaactgcagaaagaca gatggccgaggcctacagcgagatcgccatgaaggcgagcggaggcg gggcaaggccacgacggcctgtatcagggcctgtccaccgccaccaag gatacctacgacgcctgcacatgcaggccctgcccccaagg	Полученный из CD3-дзета внутриклеточный сигнальный домен (нт)
628	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGQGLSTA TKDTYDALHMQALPPR	Полученный из CD3-дзета внутриклеточный сигнальный домен (ак)
629	attgaagtattgtatcctcctctacctagacaatgagaagagcaatggaac cattatccatgtgaaagggaacacctttgtccaagtcccctatttccggac cttctaagccc	Спейсер эктодомена CD28 (нт)
630	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPG PSKP	Спейсер эктодомена CD28 (ак)
631	EGRGSLTTCGDVEENPGP	Пептид T2A (ак)
632	atgcttctcctggtgacaagccttctgctctgtgagttaccacaccagcattc ctcctgatcccacgcaaagtgtgtaacggaataggatttggtgaatttaaga ctcactctccataaatgtacgaatattaacacttcaaaaactgcacctccat cagtgccgatctccacatcctgccgtggcatttaggggtgactccttaca catactcctcctctggatccacaggaactggatattctgaaaaccgtaaagga aatcacagggttttctgattcaggctggcctgaaaacaggacggacctc catgcctttgagaacctagaatcatacgcggcaggaccaagcaacatggt cagtttctcttcagctcgcagcctgaacataacatcctgggattacgctcc ctcaaggagataagtgatggagatgtgataattcaggaacaataatttg ctatgcaataacaataaactggaaaaactgtttgggacctccggtcagaaa acaaaaattataagcaacagaggtgaaaacagctgcaaggccacaggcca ggctctgcatgcctgtgctccccgaggctgctggggcccggagcca gggactgcgtctcttgcggaatgtcagccaggcagggaatgcgtggac aagtgcaaccttctggagggtgagccaaggagtttgaggagaactctgag tgatacagtgccaccagagtgctgcctcaggccatgaacatcacctgc acaggacggggaccagacaactgtatccagtgtgcccactacattgacggc	Последовательность укороченного EGFR (tEGFR) (нт)

	<p>ccccactgctcaagacctgcccggcaggagtcacatgggagaaaacaacac  cctggtctggaagtacgcagacgccggccatgtgtgccacctgtgccatcc  aaactgcacctacggatgactgggcccaggcttgaaggctgtccaacgaa  tgggcctaagatccccctccatcgccactgggatggtgggggcccctcctcttg  ctgctggtggtggccctggggatcggcctcttcatgtga</p>	
633	<p>atgctgctcctcgtgacaagcctgctcctgtgtgaactccctcatccagctttt  ctgctcattcctcggaagtgtgcaacggcatcggcatcggagagtcaag  gacagcctgagcatcaatgccaccaatcaagcactcaagaattgcacc  agcatcagcggcgacctgcacattctgcctgtggccttttagaggcgacagct  tcaccacacacctccactggatccccaagagctggatcctgaaaaccgt  gaaagagattaccggattcctcctgatccaagcctggccagagaacagaac  cgatctgcacgccttcgagaacctcgagatcatcagaggccggaccaaac  agcacggccagtttagcctggctgtggtgtctctgaacatcaccagtctggg  cctgagaagcctgaaagaaatctccgacggcgacgtgatcctcggaaa  caagaacctgtctacccaacaccatcaactggaagaagctgttcggcac  ctccggccagaaaacaagatcatcttaaccggggcgagaacagctgca  aggccaccggacaagttgtcacgccctgtgtagccctgaaggctgttggg  gaccggaacctagagactgtgtgtcctgccggaatgtgtccggggcaga  gaatgtgtggataagtgcaacctgctggaaggcgagccccgcgagttgtg  gaaaacagcgagtgcacccagtgtcaccggagtgtgtccccaggccatg  aacattacatgcaccggcagaggccccgacaactgtattcagtgcgcccac  tacatgcagggccctcactgcgtgaaaacatgtccagctggcgtgatggga  gagaacaacaccctcgtgtggaagtatgccgacgccggacatgtgtgcca  cctgtgtcaccctaattgcacctacggctgtaccggacctggcctggaagga  tgccctacaaacggccctaagatccccagcattgccaccggaatggttga  gccctgctgcttctgttgggtggccctcgggaatcggcctgttcatgtga</p>	<p>Последовательность  укороченного EGFR (tEGFR)  (нт) (O/ЭСС)</p>
634	<p>MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPRKVCNGIGIGEFK  DSLSINATNIKHFKNCTISISGDLHILPVAFRGDSF  THTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTD  LHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLR  SLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSG  QKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGP  EPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREFVE  NSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHY  IDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHV</p>	<p>Последовательность  укороченного EGFR (tEGFR)  (ак)</p>

	CHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNNGPKIPSIATGM VGALLLLLVVALGIGLFM	
635	ggatctgcgatcgtccgggtgcccgtcagtgaggcagagcgcacatcgccc acagtccccgagaagttggggggaggggtcggcaattgaaccgggtgccta gagaaggtggcgcggggtaaaactgggaaagtgatgctgtactggctcc gccttttcccagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgcccgt gaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacagctgaagcttcga ggggctcgcacatctctcctcacgcgcccggcgcctacctgaggccgcat ccacgcccgttgagtgcggttctgccgcctcccgcctgtggtgcctcctgaa ctgctccgcccgttaggtaagtttaaagctcaggtcgagaccgggccttgt ccggcgctcccttgagcctacctaactcagccggctctccacgctttgcc tgaccctgcttcaactctacgtctttgtttcgtttctgttctgcgccgttaca gatccaagctgtgaccggcgctac	Промотор EF1-альфа с энхансером HTLV1
636	aatcaacctctggattacaaaattgtgaaagattgactggtattctaactatgt tgctccttttacgctatgtggatacgtgctttaatgcctttgtatcatgctattgc tcccgtatggcttccattttctcctcctgtataaatcctgggtgctgtctcttatg aggagtgtggcccgtgtcaggcaactggcgtggtgtgactgtgtttgct gacgcaacccccactgggtggggcattgccaccacctgtcagctccttccg ggactttcgtttccccctcctattgccacggcggaactcatcgccgctgc cttgcccgtgctggacaggggctcggctgttgggactgacaattccgtg gtgttgcggggaaatcatcgtccttcttggctgctgcctgtgttggcacct ggattctgcgcccggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagc ggaccttccctcccgccgctgctgccggctctgcggcctcttccgctcttc gccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggcccgcctccccgc	Посттранскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита сурков (WHP) (WPRE)
637	QNEYF	BCMA-52-scFV-mFc, связывающий эпитоп 1 BCMA
638	CIPCQL	BCMA-52-scFV-mFc, связывающий эпитоп 2 BCMA
639	CQRYC	BCMA-52-scFV-mFc, связывающий эпитоп 3 BCMA
640	MLMAG	BCMA-55-scFV-mFc, связывающий эпитоп 1

		BCMA
641	YFDSL	BCMA-55-scFV-mFc, связывающий эпитоп 2 BCMA
642	QLRCSSNTPPL	BCMA-55-scFV-mFc, связывающий эпитоп 3 BCMA
643	gaagtgcagctggtgcagctctggggctgagatgaagaagcctggggcctc actgaagctctcctgcaaggctctggatacaccttcacgactactatgtata ctggatgcgacaggcccctggacaagggcttgagtcacatgggatgatca accctaacagtggtggcacaactatgcacagaagtttcagggcagggtca ccatgaccaggacacgtccatcagcacagcctacatggagctgagcagg ctgagatctgacgacaccgcatgtattactgtgcgctcccagcgtgacg gttacatggattactgggtcaaggctctggtgaccgtctcctca	BCMA-55 VH-цепь (нт)
644	gaagtgcagctggtgcagctctggcgccgagatgaagaaacctggcgctc tctgaagctgagctgcaaggccagcggctacaccttcacgactactcgtg tactggatgcggcaggcccctggacagggactcgaatctatgggctggatc aacccaatagcggcggcaccattacgccagaaattccagggcagagt gaccatgaccagagacaccagcatcagcaccgctacatggaactgagcc ggctgagatccgacgacaccgcatgtactactgcgccagatctcagcgcg acggctacatggattattggggccagggaacctggtcaccgtgtccagc	BCMA-55 VH-цепь (нт) (O/ЭСС)
645	caatctgcctgactcagcctgcctccgtgtctgcgtctcctggacagtcgat cgccatctcctgactggaaccagcagtgacgttggttggtatcaacagcac ccaggcaaaagccccaaactcatgattatgaggacagtaagcggccctca ggggttctaatcgcttctctggctccaagtctggcaacacggcctcctgac catctctgggctccaggctgaggacaggctgattattactgcagctcaaat acaagaagcagcactttggtgttcggcggaggaccacaagctgaccgtccta	BCMA-55 VL-цепь (нт)
646	cagctgcctgacacagcctgccagcgttagtgctagtcgccgacagteta tcgccatcagctgtaccggcaccagctctgacgttggttggtatcagcagca ccctggcaaggcccctaagctgatgatctacaggacagcaagaggccca gcgcgctgtccaatagattcagcggcagcaagagcggcaacaccgccag cctgacaattagcggactgcaggccgaggacgaggccgattactactgca gcagcaaacaccggctccagcacactggttttggcggaggcaccacaagctg acagtgtg	BCMA-55 VL-цепь (нт) (O/ЭСС)

647	<p>tcctatgagctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagag  ggcaccatgtcttgttctggaaccagctccaacatcggaagtcaactctgtaa  actggtaccagcagctcccaggaacggccccaaactcctcatctatactaa  taatcagcggccctcaggggtccctgaccgattctctggctccaagtctggc  acctcagcctccctggccatcagtgccctccagtctgaggatgaggtgatt  attactgtgcagcatgggatggcagcctgaatggctctggattcggcggagg  gaccaagctgaccgtcctaggttctagaggtgggtggtagcggcggcg  gcggtctctgggtgggtggatccctcgagatggccgaggtgcagctggtgc  agtctggagcagaggtgaaaaagccggggagctctgaagatctcctgta  agggttctggatacagctttaccagctactggatcggctgggtgcccagat  gccccggaaaggcctggagtggatggggatcatctatcctgggtgactctga  taccagatacagcccgtcctccaaggccacgtcaccatctcagctgacaag  tccatcagcactgcctacctgcagtgagcagcctgaaggcctcggacacc  gcatgtattactgtgcgcgctactctggttcttcgataactgggggtcaaggt  actctggtgaccgtctcctca</p>	BCMA-52 scFv
648	<p>caatctgcctgactcagcctgcctccgtgtctgcgtctcctggacagtcgat  cgccatctcctgactggaaccagcagtgacgttggttggtatcaacagcac  ccaggcaaagccccaaactcatgattatgaggacagtaagcggccctca  ggggttctaatcgttctctggctccaagtctggcaacacggcctccctgac  catctctgggctccaggctgaggacgaggctgattattactgcagctcaaat  acaagaagcagcactttggtgttcggcggaggaccaagctgaccgtccta  ggttctagaggtgggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtgg  atccctcgagatggccgaagtgcagctggtgcagctctgggctgagatgaa  gaagcctggggcctcactgaagctctcctgcaaggcttctggatacaccttc  atcgactactatgtatactggatgcgacaggcccctggacaagggttgagt  ccatgggatggatcaaccctaacagtggtggcacaactatgcacagaagt  ttcagggcaggtcaccatgaccaggacacgtccatcagcacagcctac  atggagctgagcaggtgagatctgacgacaccgcatgtattactgtgcg  cgtcccagcgtgacggttacatggattactgggggtcaaggtactctggtga  ccgtctcctca</p>	BCMA-55 scFv
649	<p>ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS  RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN  AKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE  YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP  PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG</p>	Спейсер шарнир IgG4/IgG2 - CH2 IgG2/IgG4 - CH3 IgG4 (ак)

	QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	
650	ggatctgcgatcgtccgggtgccctcagtgaggcagagcgcacatcgccc acagtccccgagaagttggggggaggggtcggcaattgaaccgggtgccta gagaaggtggcgcggggtaaaactgggaaagtgatgctgtactggctcc gccttttcccagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgt gaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacagctgaagcttcca ggggctcgcactctctcctcacgcgcccggcgcctacctgaggccgccat ccacgccggttagtcgcttctgccgcctcccgcctgtggtgcctcctgaa ctgctccgccgttaggtaagtttaaagctcaggtcgagaccgggccttgt ccggcgctcccttgagcctacctaagactcagccggctctccacgctttgcc tgaccctgcttcaactctacgtctttgtttctgttctgctgccggtaca gatccaagctgtgaccggcgctacggctagcgcc	Модифицированный промотор EF1-альфа
651	tttatttagtctccagaaaaggggggaatgaaagaccccactgtaggttg gcaagctaggatcaaggtaggaacagagagacagcagaatatgggcca acaggatatctgtgtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacag ttggaacagcagaatatgggccaacaggatatctgtgtaagcagttcctg ccccggctcagggccaagaacagatggtcccagatgcggtcccgcctc agcagttctagagaaccatcagatgttccagggtgccccaggacctgaa atgacctgtgcctatttgaactaaccaatcagttcgttctcgttctgttcgc gcgcttctgctccccgagctcaataaaagagccca	Промотор MND
652	agagtgaagttcagcagatccgccgacgtccagcctatcagcagggcca aaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagaagagaagagtagcagc gtgctggataagcggagaggcagagatcctgaaatggcgccaagccca gacggaagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgcagaaagacaag atggccgaggcctacagcgagatcggaatgaaggcgagcgcagaaga ggcaaggacacgatggactgtaccaggcctgagcaccgccaccaagg atacctatgacgcactgcacatgcaggccctgccacctaga	Полученный из CD3-дзета внутриклеточный сигнальный домен (нт)
653	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP	Пептид T2A (ак)
654	LEGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	Пептид T2A (ак)
655	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	Пептид P2A (ак)
656	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	Пептид P2A (ак)
657	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	Пептид E2A (ак)
658	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP	Пептид E2A (ак)

659	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	Пептид F2A (ак)
660	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	Пептид F2A (ак)
661	agtctaaatacggac	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
662	tcaactggtatgtgg	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
663	accatctccaaggcc	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
664	gccccaggtttacac	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
665	tcagcagatccgccg	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
666	ctcctgtgtgaactc	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
667	tcggaagtgtgcaa	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
668	cagcacggccagttt	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
669	aaccggggcgagaac	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
670	ctggaaggcgagccc	Оптимизированный сайт донора сплайсинга
671	tgttcatgtgagcgg	Оптимизированный сайт донора сплайсинга (последние 4 нт за пределами кодирующей области)
672	cagtttcttctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга
673	gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgc	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга
674	cggagtgtggcctgttacagcctgctggttaccgtggcct	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга
675	gctgagagtgaagttcagcagatccgccgacgctccagcct	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга

676	acacctccactggatccccaagagctggatctcctgaaaac	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга
677	accggattcctcctgatccaagcctggccagagaacagaac	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга
678	acggccagtttagcctggctgtggtgtctctgaacatcacc	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга
679	aggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccc cgccgccccgggcccaccgcaagcattaccagccctatgccccaccacg cgacttcgcagcctatcgctcc	Эндодомен CD28 (нт)
680	RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAYRS	Эндодомен CD28 (ак)
681	aagcggggcagaaagaagctgctctacatctcaagcagccctcatgcgg cccgtgcagaccacacaagaggaagatggctgctcctgcagattccccga ggaagaagaaggcggctgcgagctg	Полученная из 4-1BB внутриклеточная ко-сигнальная последовательность (нт)
682	atggtgctgcagaccaggtgttcacagcctgctgctgtggatctctggcg cctacggc	Сигнальная последовательность IgG-каппа человека (нт)
683	atggtgctgcagaccaggtgttcacagcctgctgctgtggatctctggcg cctatgga	Сигнальная последовательность IgG-каппа человека (нт)
684	atggtgctgcagacacaggtgttcacatccctgctgctgtggatctctggagc atacggga	Сигнальная последовательность IgG-каппа человека (нт)
685	atggtgctgcagacacaggtgttcacagcctgctgctgtggatctccggag catacggga	Сигнальная последовательность IgG-каппа человека (нт)
686	ctcgagggcggcggagagggcagaggaagtcttctaacatcgggtgacgt ggaggagaatcccgccctagg	Пептид T2A (нт)
687	cttgaagtggtggcgaaggcagaggcagcctgcttacatgcggagatgt ggaagagaaccccgacctaga	Пептид T2A (нт)
688	atgttctgggtgctcgtggtcgttggcggagtgtggcctgttacagcctgct ggttaccgtggccttcacatcttttgggtc	Трансмембранный домен CD28 (нт)
689	cgctaggttaagttt	Предсказанный сайт донора

		сплайсинга
690	gaccaaggtgaccgt	Предсказанный сайт донора сплайсинга
691	tgactggtaccagc	Предсказанный сайт донора сплайсинга
692	taaactggtaccagc	Предсказанный сайт донора сплайсинга
693	atctcctgtaagggt	Предсказанный сайт донора сплайсинга
694	ggtcaaggtactctg	Предсказанный сайт донора сплайсинга
695	gaggacagtaagcgg	Предсказанный сайт донора сплайсинга
696	ggtcaaggtactctg	Предсказанный сайт донора сплайсинга
697	tgctccgtgtctgc	Предсказанный сайт донора сплайсинга
698	caccaaggtgaccgt	Предсказанный сайт донора сплайсинга
699	tgaactggtatcagc	Предсказанный сайт донора сплайсинга
700	atctctgaaatggt	Предсказанный сайт донора сплайсинга
701	ggccagggcacactg	Предсказанный сайт донора сплайсинга
702	gaggacagcaagagg	Предсказанный сайт донора сплайсинга
703	ggccagggaacctg	Предсказанный сайт донора сплайсинга
704	tgccagcgtagtgc	Предсказанный сайт донора сплайсинга
705	aatctaagtacggac	Предсказанный сайт донора сплайсинга
706	tcaactggtactgtg	Предсказанный сайт донора

		сплайсинга
707	acaattagtaaggca	Предсказанный сайт донора сплайсинга
708	accacaggtgtatac	Предсказанный сайт донора сплайсинга
709	ttccaggtccgccg	Предсказанный сайт донора сплайсинга
710	ctgctctgtgagtta	Предсказанный сайт донора сплайсинга
711	acgcaaagtggttaa	Предсказанный сайт донора сплайсинга
712	caacatggcagttt	Предсказанный сайт донора сплайсинга
713	aacagaggtgaaaac	Предсказанный сайт донора сплайсинга
714	ctggaggggtgagcca	Предсказанный сайт донора сплайсинга
715	gaggtgcagctggtggagtccggaggaggcctggtgaagccaggaggt ccctgaggctgtcttgcgcagccagcggcttcaccttagcgactactatg tcttgatcagacaggcacctggcaagggcctggagtgggtgagctacat cagctcctctggctccacaatctactatgccgactctgtgaagggccggtta ccatcagcagagataacgccaagaattcctgtatctgcagatgaacagcct gagggccgaggacacagccgtgtactattgcgccaaggtggacggcgatt acaccgaggattattggggccagggcacactggtgaccgtgagctccggc ggcggcggctctggaggaggaggcagcggcggaggaggtcccagtct gccctgacacagccagccagcgtgtccggctctccggacagtccatcac aatctctgtaccggcttagctccgacgtgggcaagtacaacctggtgtcct ggtatcagcagccccctggcaaggcccctaagctgatcatctacgatgtga acaagaggccatctggcgtgagcaatcgcttcagcggctccaagtctggca ataccgccaactgaccatcagcggcctgcagggcgacgatgaggcagat tactattgttagctacggcggcagcagatcctacgtgttcggcacaggca ccaaggtgaccgtgctg	BCMA-23 scFv (нт)
716	gaggtgcagctggtgcagagcggaggaggcctggtgcagcctggcaggt ccctgcgcctgtcttgcaccgccagcggcttcacatttggcgactatgccatg	BCMA-25 scFV(нт)

	<p>tcttggtcaggcaggcaccaggcaaggcctggagtgggtgggctttatc  cgctctaaggcctacggcggcaccacagagtatgccgccagcgtgaagg  gccgggtcaccatcagccgggacgactctaagagcatgcctacctgcaga  tgaactctctgaagaccgaggacacagccgtgtactattgcgcagcatgga  gcccccaaccgattattggggccagggcacccctggtgacagtgagctcc  ggcggcggcggctctggaggaggaggaagcggaggaggaggatccga  catccagatgacacagtcccctgcctttctgtccgcctctgtgggcgatagg  gtgaccgtgacatgtcgcgcctcccaggcatcttaactacctggcctggt  atcagcagaagcccggcaatgccctcggctgctgatctacagcgcctcca  ccctgcagagcggagtgcctcccgggtcagaggaaccggctatggcaca  gagttttcttgaccatcgacagcctgcagccagaggatttcgccacatacta  ttgtcagcagtcttacaccagccggcagacatttggccccggcacaagact  ggatatcaag</p>	
717	<p>gaggtgcagctggtgcagagcggaggaggcctggtgcagcct  ggcaggtccctgcgcctgtcttgcaccgccagcggcttacatttggcgact  atgccatgtcctggttcaagcaggcaccaggcaaggcctggagtgggtg  ggctttatccgctctaaggcctacggcggcaccacagagtatgccgccagc  gtgaaggccgggtcaccatcagccgggacgactctaagagcatgcctta  cctgcagatgaactctctgaagaccgaggacacagccgtgtactattgcgc  agcatggagcgcgcccaaccgattattggggccagggcacccctggtgacag  tgagctccggcggcggcggctctggaggaggaggaagcggaggaggag  gatccgacatccagatgacacagtcccctgcctttctgtccgcctctgtgggc  gatagggtgaccgtgacatgtcgcgcctcccaggcatcttaactacctgg  cctggtatcagcagaagcccggcaatgccctcggctgctgatctacagcg  cctccaccctgcagagcggagtgcctcccgggtcagaggaaccggctat  ggcacagagttttcttgaccatcgacagcctgcagccagaggatttcgcca  catactattgtcagcagtcttacaccagccggcagacatttggccccggcac  aagactggatatcaag</p>	BCMA-25 scFV(HT) (O/ЭCC)
718	<p>gaggtgcagctggtggagtccggaggaggcctggtgaagccaggaggct  ctctgaggctgagctgcgcagcctccggcttacctttctgactactatatga  gctggatcaggcaggcaccaggcaaggcctggagtgggtgtcttacatc  agctcctctggcagcacaatctactatgccgactccgtgaaggcaggttca  ccatctctcgcgataacgccaagaatagcctgtatctgcagatgaactccctg  cgggccgaggatacagccgtgtactattgcgccaaggtggacggcccccc  ttcctttgatctggggccagggcacaatggtgaccgtgagctccggagga</p>	BCMA-26 scFV (HT)

	<p>ggaggatccggcggaggaggctctggcggcggcggctctagctatgtgct  gaccagccaccatccgtgtctgtggcacctggacagacagcaaggatca  cctgtggagcaaacatcggcagcaagtccgtgactggtaccagcaga  agcctggccaggcccaatgctggtggtgtatgacgatgacgatcgccca  gcgcatccctgagagatttctggcagcaactccggcaataccgccacact  gaccatctctggagtggaggcaggcgacgaggcagattacttctgtcacct  gtgggaccggagcagagatcactacgtgttcggcacaggcaccaagctga  ccgtgctg</p>	
719	<p>gaggtgcagctggtggagtccggaggaggcctggtgaagcca  ggaggctctctgaggctgagctgcgcagcctccggcttcacctttctgacta  ctatatgagctggatcaggcaggcaccaggcaaggcctggagtgggtgt  cttacatcagctcctctggcagcacaatctactatgccgactccgtgaagg  caggttcaccatctctcgcgataacgccaagaatagcctgtatctgcagatg  aactccctcggggcggaggatacagccgtgtactattgcgccaaggtggac  ggccccctctttgatctctggggccagggcacaatggtgaccgtgagct  ccggaggaggaggatccggcggaggaggctctggcggcggcggctcta  gctatgtgctgaccagccaccatccgtgtctgtggcacctggacagacag  caaggatcacctgtggagcaaacatcggcagcaagtccgtgactggt  accagcagaagcctggccaggcccaatgctggtggtgtatgacgatgac  gatcgcccagcggcatccctgagagatttctggcagcaactccggcaat  accgccacactgaccatctctggagtggaggcaggcgacgaggcagatta  cttctgtcacctgtgggaccggagcagagatcactacgtgttcggcacagg  caccaagctgaccgtgctg</p>	BCMA-26 scFV (HT) (O/ЭСС)
720	tcttcatgtgagcgg	Предсказанный сайт донора сплайсинга укороченного маркера
721	tggctccgccttttcccagggtgggggagaaccgtatat	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга промотора
722	tgaactgcgtcccgctctagtaagttaaagctcaggtc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга промотора
723	ttctgttctgcgccgttacagatccaagctgtgaccggcgc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга промотора

724	ctactacatgagctggatccgccaggctccaggaaggggc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-23
725	ggctgattattattgtagctcatatggaggtagtaggtctt	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-23
726	ctatgccatgtcctgggtcaggcaggcaccaggcaagggcc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-25
727	gtccgcctctgtggcgatagggtgaccgtgacatgtcgcg	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-25
728	gtgggctttatccgctctaaggcctacggcggcaccacaga	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-25
729	gtgacatgtcgcgcctcccaggcatctctaactacctggc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-25
730	tacagcgcctccaccctgcagagcggagtgccctcccggtt	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-25
731	ctggccatcagtgccctccagtctgaggatgaggctgatta	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-52
732	agatacagcccgtcctccaaggccacgtcaccatctcagc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-52
733	cgaggctgattattactgcagctcaatacaagaagcagca	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-55
734	gccctcaggggttctaatcgcttctctggctccaagtctg	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга BCMA-55
735	ctactatatgtcctggatcagacaggcacctggcaagggcc	Предсказанный сайт

		акцептора сплайсинга ВСМА-23 (О/ЭСС)
736	ggcagattactattgttctagctacggcggcagcagatcct	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга ВСМА-23 (О/ЭСС)
737	ctatgccatgtcctggttcaagcaggcaccaggcaagggcc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга ВСМА-25 (О/ЭСС)
738	ctggctatttctggactgcagagcgaggacgaggccgacta	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга ВСМА-52 (О/ЭСС)
739	agatacagccctagctttcagggccacgtgaccatcagcgc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга ВСМА-52 (О/ЭСС)
740	cgaggccgattactactgcagcagcaacacccggccagca	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга ВСМА-55 (О/ЭСС)
741	gccagcggcgtgtccaatagattcagcggcagcaagagcg	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга ВСМА-55 (О/ЭСС)
742	aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга спейсера
743	gggcaacgtgttctcttgacgtgtcatgcacgaagccctgc	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга спейсера
744	aggggtgctggcctgttacagcctgctggtgacagtcgctt	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга CD28TM
745	gctgagagtcaagttttccaggctccgccagcctccagcct	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга 4- 1ВВ/CD3-дзета
746	actcctcctctggatccacaggaactggatattctgaaaac	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга

		укороченного маркера
747	acagggttttgcgattcaggcttggcctgaaaacaggac	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга укороченного маркера
748	atggcagtttctcttgcagtcgagcctgaacataaca	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга укороченного маркера
749	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVK CCVECPPEPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC KVSNGKLPAPIEKTKTKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISEWESNGQPE NYKTTTPMLDSGTSFLLYSLKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG2 Fc человека (Uniprot P01859)
750	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESK YGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGTSFLLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG4 Fc человека (Uniprot P01861)
751	gaggcagctggaggagtcggaggagcctggtagcca ggaggctccctgaggctgtcttgcgagccagcggcttcaccttagcgact actatatgtctggatcagacagccacctggcaaggcctggaggaggga gctacatcagctcctctggctccacaatctactatgccgactctgtgaaggc cggttaccatcagcagagataacgccaagaattcctgtatctgcagatga acagcctgaggggcaggacacagccgtgtactattgcgccaaggaggac ggcgattaccaggaggattattggggccaggccacactggtgaccgtgag ctccggcggcggcggctctggaggaggaggcagcggcggaggaggctc	анти-BCMA CAR

	<p>ccagtctgcctgacacagccagccagcgtgtccggctctcccgacagtc  catcacaatctctgtaccggctctagctccgacgtgggcaagtacaacctg  gtgtcctggatcagcagccccctggcaaggcccctaagctgatcatctacg  atgtgaacaagaggccatctggcgtgagcaatcgcttcagcggctccaagt  ctggcaataccgccacactgaccatcagcggcctgcaaggcgacgatgag  gcagattactattgttctagctacggcggcagcagatcctacgtgttcggcac  aggcaccaaggtgaccgtgctggaatctaagtacggaccgccttgcctcct  tgtcccgtcctcctgttggcggaccttccgtgttctgtttcctcaaagccta  aggacacctgatgatcagcaggaccctgaagtacctgcgtgggtggtg  gatgtgtccaagaggatcccagggtgcagttcaactggtatgtggacggc  gtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagttccaga  gcacctacagagtgggtgtccgtgctgacagtgtgcaccaggattggctga  acggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaagggcctgcctagcagc  atcgagaaaaccatctccaaggccaagggccagccaagagagccccagg  tttacactgcctccaagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtcct  gacatgcctggtaagggcttctaccctccgatatcgccgtggaatggga  gagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctctgtgctgg  acagcgacggcagtttctctgtatagtagactaccgtggataaatcaaga  tggcaagagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgca  caaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaagatgttctgg  gtgctcgtggcgttggcggagtgtggcctgttacagcctgctggtaccgt  ggccttcatcttttgggtcaagcggggcagaaagaagctgctctacatct  tcaagcagcccttcatgcggcccgtgcagaccacacaagaggaagatggc  tgcctcctgcagattccccgaggaagaagaaggcggctgcgagctgagagt  gaagttcagcagatccgccgacgctccagcctatcagcagggccaaaacc  agctgtacaacgagctgaacctggggagagaagagaaggtacgacgtgctg  gataagcggagaggcagagatcctgaaatggcggcaagcccagacgg  aagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgcagaaagacaagatggcc  gaggcctacagcgagatcggaatgaagggcgagcgcagaagaggcaag  ggacacgatggactgtaccaggcctgagcaccgccaccaaggataccta  tgacgcactgcacatgcaggccctgccacctaga</p>	
752	<p>gaggtgcagctggtgcagagcggaggaggcctggtgcagcct  ggcaggtccctgcctgtcttgcaccgccagcggcttcaatttggcgact  atgccatgtcctggttcaagcaggcaccaggcaagggcctggagtgggtg  ggctttatccgctctaaggcctacggcggcaccacagagtatgccgccagc</p>	анти-BCMA CAR

gtgaagggccggttcacatcagccgggacgactctaagagcatcgcta  
cctgcagatgaactctctgaagaccgaggacacagccgtgtactattgcgc  
agcatggagcgcccaaccgattattggggccagggcacacctggtgacag  
tgagctccggcgggcggtctggaggaggaggaagcggaggaggag  
gatccgacatccagatgacacagtcccctgcctttctgtccgcctctgtgggc  
gatagggtgaccgtgacatgtcgcgcctcccagggcattcttaactacctgg  
cctggtatcagcagaagcccggcaatgccctcggctgctgatctacagcg  
cctccacctgcagagcggagtgcctcccgggtcagaggaaccggctat  
ggcacagagtttctctgaccatcgacagcctgcagccagaggatttcgcca  
catactattgtcagcagtcttacaccagccggcagacattggccccggcac  
aagactggatatcaaggagtctaaatacggaccgcttctctctctgtcccg  
ctcctcctgttgccggaccttccgtgttctcttctcctcaaacctaaaggaca  
ccctgatgatcagcaggacctgaagtgcctgcgtggtggtggatgtgtc  
ccaagaggatcccagggtgcagttcaactggtatgtggacggcgtggaagt  
gcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagttccagagcacctac  
agagtgggtgtccgtgctgacagtgtgcaccaggattggctgaacggcaaa  
gagtacaagtcaagggtgtccaacaaggcctgcctagcagcatcgagaa  
aacctctccaaggccaaggccagccaagagagccccaggtttacacac  
tgctccaagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgacatgcc  
tggtcaagggtcttacctccgatatgccgtggaatgggagagcaatg  
gccagcctgagaacaactacaagaccacacctctgtgctggacagcgac  
ggcagtttctctgtatagtagactcacctggataaatcaagatggcaaga  
gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccact  
acaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaagatgttctgggtgctcgt  
ggtcgttggcggagtgtggcctgttacagcctgctggttaccgtggccttca  
tcatctttgggtcaagcggggcagaaagaagctgctctacatcttcaagca  
gcccttcatgcggcccgtgcagaccacacaagaggaagatggctgctcct  
gcagattccccgaggaagaagaaggcggctgcgagctgagagtgaagttc  
agcagatccgccgacgtccagcctatcagcagggccaaaaccagctgta  
caacgagctgaacctggggagaagagaagagtacgacgtgctggataag  
cggagaggcagagatcctgaaatgggcccgaagcccagacggaagaatc  
ctcaagaggcctgtataatgagctgcagaaagacaagatggccgaggcc  
tacagcgagatcggaatgaaggcgagcgcagaagaggcaaggacac  
gatggactgtaccaggcctgagcaccgccaccaaggatacctatgacgc  
actgcacatgcaggccctgccacctaga

753	<p>gaggtgcagctggtggagtccggaggaggcctggtgaagcca  ggaggctctctgaggctgagctgcgcagcctccggctcacctttctgacta  ctatatgagctggatcaggcaggcaccaggcaaggcctggagtgggtgt  cttacatcagctcctctggcagcacaatctactatgccgactccgtgaaggg  caggtcaccatctctcgcgataacgccaagaatagcctgtatctgcagatg  aactccctcggggccgaggatacagccgtgtactattgcgccaaggtggac  ggcccccttctttgatctggggccagggcacaatggtgaccgtgagct  ccggaggaggaggatccggcggaggaggctctggcggcggcggctcta  gctatgtgctgaccagccaccatccgtgtctgtggcacctggacagacag  caaggatcacctgtggagcaacaatcggcagcaagtccgtgactggt  accagcagaagcctggccaggcccaatgctggtggtgatgacgatgac  gatcggcccagcggcatccctgagagattttctggcagcaactccggcaat  accgccacactgaccatctctggagtggaggcaggcagcagggcagatta  cttctgtcacctgtgggaccggagcagagatcactacgtgttcggcacagg  caccaagctgaccgtgctggaatctaagtacggaccgcctgtctccttctgc  ccgctcctcctgttgccggacctccgtgttctgttctccaagcctaagg  acacctgatgatcagcaggaccctgaagtacctgcgtggtggtgatg  tgtccaagaggatcccagggtgcagttcaactggtatgtggacggcgtgg  aagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagttccagagcac  ctacagagtgggtgtccgtgctgacagtgtgcaccaggattggctgaacgg  caaagagtacaagtgaaggtgtccaacaagggcctgcctagcagcatcg  agaaaaccatctccaaggccaagggccagccaagagagccccaggtttac  aactgcctccaagccaagaggaaatgaccaagaatcaggtgtccctgaca  tgctggtcaagggcttctaccctccgatatgccgtggaatgggagagc  aatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctctgtgctggacagc  gacggcagtttctcctgtatagtagactaccgtggataaatcaagatggca  agagggcaacgtgtcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaacc  actacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaagatgttctgggtgct  cgtggtcgttggcggagtgtggcctgttacagcctgctggttaccgtggcc  ttcatcatctttgggtcaagcggggcagaaagaagctgctctacatcttcaa  gcagccctcatcggcccgtgcagaccacacaagaggaagatggctgct  cctgcagattccccgaggaagaagaaggcggctgcgagctgagagtga  gttcagcagatccgccgacgtccagcctatcagcagggccaaaaccagc  tgtacaacgagctgaacctggggagaagagaagagtacgacgtgctggat  aagcggagaggcagagatcctgaaatgggcggcaagcccagacggaag</p>	анти-BCMA CAR
-----	--	---------------

	<p>aatcctcaagagggcctgtataatgagctgcagaaagacaagatggccga  ggcctacagcgagatcggaatgaagggcgagcgcagaagaggcaaggg  acacgatggactgtaccagggcctgagcaccgccaccaaggatacctatg  acgcactgcacatgcaggccctgccacctaga</p>	
754	<p>agctatgagctgacacagcctccaagcgcctctggcacacctgg  acagcgagtgacaatgagctgtagcggcaccagcagcaacatcggcagc  cacagcgtgaactggtatcagcagctgcctggcacagcccctaaactgctg  atctacaccaacaaccagcggcctagcggcgtgcccgatagattttctggca  gcaagagcggcacaagcggcagcctggctatttctggactgcagagcgag  gacgaggccgactattattgtccgcctgggacggctcttgaacggccttg  ttttggcggaggcaccagctgacagtgctgggatctagaggtggcggag  gatctggcggcggagggaagcggaggcggcgatctttgaaatggctgaa  gtgcagctggtgagctctggcggcgaaggaagaagcctggcgagagcct  gaagatcagctgcaaaggcagcggctacagcttaccagctactggatcg  gctgggtccgacagatgcctggcaaaggccttgatggatgggcatcatct  accccggcgacagcgacaccagatacagccctagcttccaggccacgtg  accatcagcggcacaagtctatcagcaccgcctacctgagtggtccagc  ctgaaggcctctgacaccgccatgtactactgcgccagatactctggcagct  tcgacaattggggccagggcacactggtcaccgtgtccagcagtgtaaat  acggaccgcctgtctcctgtcccgtcctcctgttccggaccttccgtgt  tctgtttcctcaaagcctaaggacaccctgatgatcagcaggaccctga  agtgacctgcgtggtggtgatgtgtcccaagaggatcccagggtgcagtt  caactggtatgtggcggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagccta  gagaggaacagttccagagcacctacagagtggtgtccgtgctgacagtgc  tgaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaac  aagggcctgcctagcagcatcgagaaaaccatctccaaggccaagggcca  gccaagagagccccagggtttacacctgcctccaagccaagaggaaatga  ccaagaatcaggtgtcctgacatgcctggtcaagggttctaccctccga  tatgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaaga  ccacacctctgtgctggacagcgcagcagtttctcctgtatagtagactc  accgtggataaatcaagatggcaagaggcgaactgttcagctgcagcgtg  atgcacgaggccctgcacaaccactaccccagaaaagcctgagcctgtct  ctgggcaagatgttctgggtgctcgtggtcgttggcggagtctggcctgta  cagcctgctggttaccgtggccttcatcatctttgggtcaagcggggcagaa  agaagctgctctacatcttcaagcagcccttcatgcggcccgtgcagaccac</p>	анти-BCMA CAR

	<p>acaagaggaagatggctgctcctgcagattccccgaggaagaagaaggc  ggctgcgagctgagagtgaagttcagcagatccgccgacgtccagcctat  cagcagggccaaaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagaagag  aagagtacgacgtgctggataagcggagaggcagagatcctgaaatggg  ggcaagcccagacggaagaatcctcaagagggcctgtataatgagctgca  gaaagacaagatggccgagggcctacagcgagatcggaatgaagggcga  gcgcagaagaggcaagggacacgatggactgtaccagggcctgagcacc  gccaccaagatacctatgacgcactgcacatgcagggcctgccacctaga</p>	
755	<p>cagtctgcctgacacagcctgccagcgtagtgtagtcccgg  acagtctatgccatcagctgtaccggcaccagctctgacgttggctggtatc  agcagcaccctggcaagggcccctaagctgatgatctacgaggacagcaag  aggcccagcggcggtgtccaatagattcagcggcagcaagagcggcaaca  ccgccagcctgacaattagcggactgcaggccgaggacgaggccgattac  tactgcagcagcaacaccgggtccagcactggttttggcggaggcacc  aagctgacagtgtgggatctagagtgggcggaggatctggcggcggag  gaagcggaggcggcggtatcttgaatggctgaagtgcagctggtgcag  tctggcggcagatgaagaaacctggcgcctctctgaagctgagctgcaag  gccagcggctacacctcatcgaactactacgtgtactggatgcggcaggcc  cctggacagggactcgaatctatgggctggatcaacccaatagcggcgg  caccaattacgccagaaattccagggcagagtgacctgaccagagaca  ccagcatcagcaccgcctacatggaactgagccggctgagatccgacgac  accgcatgtactactgcgccagatctcagcggcagggctacatggattatt  ggggccaggaacctgtcaccgtgtccagcagtgtaatacggaccg  cctgtctccttgtcccgtcctcctgttgccggaccttccgtgttctgtttcc  tccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcaggaccctgaagtacctg  cgtgggtggatgtgtccaagaggatcccaggtgcagttcaactggtat  gtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaac  agttccagagcacctacagagtgggtgtccgtgctgacagtgtgcaccagg  attggctgaacggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaagggcctg  cctagcagcatcgagaaaacctctcaaggccaagggccagccaagag  agccccagggttacacactgcctccaagccaagaggaaatgaccaagaatc  aggtgtccctgacatgcctgtcaagggcttctaccctccgatatcgccgt  ggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctc  ctgtgctggacagcagcggcagtttcttctgtatagtagactaccgtggat  aaatcaagatggcaagagggaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacga</p>	анти-BCMA CAR

	<p>ggcctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaa  gatgttctgggtgctcgtggcgttggcggagtgtggcctgttacagcctgc  tggtaccgtggccttcatcatcttttgggtcaagcggggcagaaagaagct  gctctacatcttcaagcagcccttcatgcggcccgtgcagaccacacaaga  ggaagatggctgctcctgcagattccccgaggaagaagaaggcggctgcg  agctgagagtgaagttcagcagatccgccgacgtccagcctatcagcag  ggccaaaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagaagagaagagt  acgacgtgctggataagcggagaggcagagatcctgaaatgggcggcaa  gccagacggaagaatcctcaagaggcctgtataatgagctgcagaaag  acaagatggccgaggcctacagcagatcggaatgaaggcgagcgca  gaagaggcaaggacacgatggactgtaccaggcctgagcaccgccac  caaggatacctatgacgactgcacatgcaggcctgccacctaga</p>	
756	<p>cagtctgccctgacacagcctgccagcgttagtgctagtcccgg  acagtctatcgccatcagctgtaccggcaccagctctgacgttggctggtatc  agcagcacctggcaaggcccctaagctgatgatctacgaggacagcaag  aggcccagcggcgtgtccaatagattcagcggcagcaagagcggcaaca  ccgccagcctgacaattagcggactgcaggccgaggacgaggccgattac  factgcagcagcaaacaccgggtccagcacactggttttggcggaggcacc  aagctgacagtgtgggatctagaggtggcggaggatctggcggcggag  gaagcggaggcggcggatctcttgaatggctgaagtgcagctggtgcag  tctggcggcagatgaagaaacctggcgcctctctgaagctgagctgcaag  gccagcggctacaccttcacgactactacgtgtactggatgcccaggcc  cctggacagggactcgaatctatgggctggatcaacccaatagcggcgg  caccaattacgccagaaattccaggcagagtaccatgaccagagaca  ccagcatcagcaccgectacatggaactgagccggctgagatccgacgac  accgcatgtactactgcgccagatctcagcgcgacggctacatggattatt  ggggccagggaacctggtcaccgtgtccagcaggtctaaatacggaccg  ccttgcctccttgtcccgtcctcctgttgccggaccttccgtgttctgtttcc  tccaaagcctaaggacaccctgatgatcagcaggaccctgaagtacctg  cgtggtggtggatgtgtccaagaggatcccagggtgcagttcaactggtat  gtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaac  agtccagagcacctacagagtgggtgtccgtgctgacagtgtgcaccagg  attggctgaacggcaaagagtacaagtgaaggttccaacaaggcctg  cctagcagcatcgagaaaacctctccaaggccaaggccagccaagag  agccccaggtttacacactgcctccaagccaagaggaaatgaccaagaatc</p>	анти-BCMA CAR

	<p>aggtgtccctgacatgcctggtaagggcttctaccctccgatatcgccgt  ggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctc  ctgtgctggacagcgacggcagtttcttctgtatagtagactcaccgtggat  aatcaagatggcaagagggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacga  ggccctgcacaaccactacaccagaaaagcctgagcctgtctctgggcaa  gatgttctgggtgctcgtggcgttggcggagtgtggcctgttacagcctgc  tggttaccgtggccttcatcatcttttgggtcaggagtaagaggagcaggctc  ctgcacagtactacatgaacatgactccccgccgccccggcccacccg  caagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctatcgctcc  agagtgaagttcagcagatccgccgacgctccagcctatcagcagggcca  aaaccagctgtacaacgagctgaacctggggagaagagaagagtacgac  gtgctggataagcggagaggcagagatcctgaaatggcggcaagcca  gacggaagaatcctcaagagggcctgtataatgagctgcagaaagacaag  atggccgaggcctacagcgagatcggaatgaaggcgagcgcagaaga  ggcaaggacacgatggactgtaccagggcctgagcaccgccaccaagg  atacctatgacgactgcacatgcaggccctgccacctaga</p>	
757	<p>EVQLVESGGGLVKPAGSLRSLCAASGFTFSDIY  MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG  RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV  DGDYTEDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG  GSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGKYN  LVSWEYQQPPGKAPKLIHYDVNKRPSGVSNRFSGS  KSGNTATLTISGLQGDDEADYICSSYGGSRSYV  FGTGTKVTVLESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLF  PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN  WYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTV  LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG  QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS  DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSR  LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL  LSLGLKMFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFW  VKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF  PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE  LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ  EGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH</p>	анти-BCMA CAR

	GLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
758	<p>EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYA  MSWFKQAPGKGLEWVGFIRSKAYGGTTEYAAS  VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYC  AAWSAPTDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGG  GGSDIQMTQSPAFLSASVGDRVTVTCRASQGISN  YLAWYQQKPGNAPRLLIYSASTLQSGVPSRFRG  TGYGTEFSLTIDSLQPEDFATYYCQQSYTSRQTF  GPGTRLDIKESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPP  KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY  VDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLH  QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP  REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI  AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL  TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS  LSLGKMFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV  KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE  EEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELN  LGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG  LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDL  YQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>	анти-BCMA CAR
759	<p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY  MSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKG  RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV  DGPPSFDIWGQGMVTVSSGGGGSGGGGSGGG  GSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGANNIGSKSV  HWYQQKPGQAPMLVVYDDDDRPSGIPERFSGS  NSGNTATLTISGVEAGDEADYFCHLWDRSRDHY  VFGTGTKLTVLESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFL  FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN  WYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTV  LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG  QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS  DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSR  LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL</p>	анти-BCMA CAR

	<p>           SLSLGKMFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFW            VKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF            PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE            LNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQ            EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH            DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR         </p>	
760	<p>           SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSV            NWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSK            SGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDGLNGLV            FGGGTKLTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA            EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWI            GWVRQMPGKGLEWMGHIYPGDSSTRYSPSFQG            HVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCYARY            SGSFDNWGQGLTVTVSSESKYGPPCPPCPAPPVA            GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED            PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRV            VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT            ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV            KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG            SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH            YTQKSLSLSLGKMFVWLVVVGGVLACYSLLVTV            VAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED            GCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ            NQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPR            RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR            RGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR         </p>	анти-BCMA CAR
761	<p>           QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQ            HPGKAPKLMIEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTAS            LTISGLQAEDEADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLT            VLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSG            AEMKKPGASLKLSCASGYTFIDYYVYWMRQA            PGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTR            DTSISTAYMELSRLRSDDTAMYCYARSQRDGY            MDYWGQGLTVTVSSESKYGPPCPPCPAPPVAGP            SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE         </p>	анти-BCMA CAR

	VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGDSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKLSLSLGGKMFVVLVVVGGVLACYLLVTV AFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
762	QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQ HPGKAPKLMIEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTAS LTISGLQAEDEADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLT VLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSG AEMKKPGASLKLSCKASGYTFIDYYVYWMRQA PGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTR DTSISTAYMELSRRLSDDTAMYYCARSQRDGY MDYWGQGTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPPVAGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGDSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKLSLSLGGKMFVVLVVVGGVLACYLLVTV AFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	анти-BCMA CAR
763	cttttcgaacgggttgc	Прямой праймер для промотора EF1a/HTLV
764	gatatcgaattctgcagcc	Обратный праймер для участка сразу 5' от WPRE

765	cgccttgctccttgccagctcctcctgtgcccggacct	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга
766	cgccttgctccttgccccgctcctcctgtgcccggacct	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга
767	cagtttctcctgtatagtagactcaccgtggataaatcaa	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга
768	accggattcctcctgattcaggcctggccagagaacagaac	Предсказанный сайт акцептора сплайсинга
769	LPVLTQPPSTSGTPGQRVTVSCSGSSSNIGSNVVF WYQQLPGTAPKLVYRNNQRPSGVPDRFSVSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVF GTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAE VQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSY AIS WVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRV TMTEDTSTDТАYMEЛSSLRSEDTAVYYCARSGY SKSIVSYMDYWGQGTLVTVSS	Анти-BCMA scFv
770	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVF WYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSASYV FGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGTANYAQKFQG RVTITADESTSTAYMEЛSSLRSEDTAVYYCARS YGSYRWEDSWGQGTLVTVSS	Анти-BCMA scFV
771	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDV HWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSK SGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVF GTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQ VQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYY MHWVRQAPGQRLEWMGWINPNSGGTNYAQKF QDRITVTRDTSSNTGYMEЛTRLRSDDTAVYYCA RSPYSGVLDKWQGTLVTVSS	Анти-BCMA scFV
772	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGR	Анти-BCMA VH

	VTMTEDTSTD TAYMELSSLRSED TAVYYC ARSG YSKSIVSYMDYWGQGLVTVSS	
773	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGTANYA QKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARSG YGSYRWEDSWGQGLVTVSS	Анти-BCMA VH
774	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDY YMHWRQAPGQRLEWMGWINPNSGGTNYA QK FQDRITVTRDTSSNTGYMELTRLRSDDTAVYYC ARSPYSGVLDKWGQGLVTVSS	Анти-BCMA VH
775	LPVLTQPPSTSGTPGQRVTV SCSSSNIGSNVVF WYQQLPGTAPKLV IYRNNQRPSGVPDRFSVSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGYVF GTGTKVTVLG	Анти-BCMA VL
776	QAVLTQPPSASGTPGQRVTI SCSSSNIGSNYVF WYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSASYV FGTGTKVTVLG	Анти-BCMA VL
777	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTI SCTGSSSNIGAGFDV HWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSK SGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVF GTGTKVTVLG	Анти-BCMA VL
778	SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA	Линкер
779	YFDSL	Эпитоп BCMA
780	QNEYFDSLL	Эпитоп BCMA
781	LPVLTQPPSASGTPGQRVTI SCSSSNIGSNVFN WYRQLPGAAPKLLIYSNNQRPPGVPVRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEATYYCATWDDNLNVHYV FGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYA QKFQGR VTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARGG YYSHDMWSEDWGQGLVTVSS	Анти-BCMA scFv
782	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA	Анти-BCMA scFv

	MSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR AEMGAVFDIWGQGTMVTVSSGSTSGSGKPGSGE GSTKGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVS RYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRISWPFTF GGGTKVEIK	
783	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRILA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGS GTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRISWPFTFGGGT KVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVQLLESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARAEMGAVFDIWG QGMVTVSS	Анти-BCMA scFv
784	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RDGTYLGGLWYFDLWGRGTLVTVSSGSTSGSG KPGSGEGSTKGDIVMTQSPLSLVTPGEPASISCR SSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCMQGLGLPLTFGGGTKVEIK	Анти-BCMA scFv
785	DIVMTQSPLSLVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGY NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLGLPL TFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQ LVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHW VRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRF TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGT YLGGLWYFDLWGRGTLVTVSS	Анти-BCMA scFv
786	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSY YMHWRQAPGQGLEWMGIINPGGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCA RESWPMDVWGQGTITVTVSSGSTSGSGKPGSGE	Анти-BCMA scFv

	GSTKGEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSV SSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFS GSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYAAYP TFGGGTKVEIK	
787	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLA WYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSG TEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYAAYP TFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGAE VKKPGASVKVCKASGYTFTSYMHWRQAPG QGLEWMGIINPGGGSYSAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMESSLRSEDVAVYYCARESWPMDVWG QGTTVTVSS	Анти-BCMA scFv
788	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYY WGWIRQPPGKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGR GYATSLAFDIWGQGMVTVSSGSTSGSGKPGSGE GSTKGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVS SYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFAVYYC QQRHVWPPTFGGGTKVEIK	Анти-BCMA scFv
789	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFAVYYC QQRHVWPPTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGE GSTKGQLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGG SISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSISYSGST YYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGR GYATSLAFDIWGQGMVTVSS	Анти-BCMA scFv
790	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSTIS SSSSSTIYYADSVKGRFTISRDAKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDYWGQGLVTV SSGSTSGSGKPGSGEGSTKGEIVLTQSPATLS LSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFAVYYC QQRFYYPWTF	Анти-BCMA scFv

	GGGTKVEIK	
791	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLE WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRFYYPWTFGGG TKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSTISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNK NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSQEHLIFDY WGQGTLVTVSS	Анти-BCMA scFv
792	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RTDFWSGSPPGLDYWGQGTLVTVSSGSTSGSGK PGSGEGSTKGDIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCR ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQIY TFPFTFGGGTKVEIK	Анти-BCMA scFv
793	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQIYTFPFTFGGGT KVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVESGG GVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTDFWSGSPP GLDYWGQGTLVTVSS	Анти-BCMA scFv
794	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARTP EYSSSIWHYYYGMDVWGQTTVTVSSGSTSGS GKPGSGEGSTKGDIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CKSSQSVLYSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVYYCQQFAHTPFTFGGGTKVEIK	Анти-BCMA scFv
795	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN KNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPD	Анти-BCMA scFv

	RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQFAHT PFTFGGGTKVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQV QLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARTPE YSSSIWHYYYGMDVWGQGTTVTVSS	
796	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCV KGPLQEPPYDYGMDVWGQGTTVTVSSGSGSGS GKPGSGEGSTKGEIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYSA STRA TGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQ HHVWPLTFGGGTKVEIK	Анти-BCMA scFv
797	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLA WYQQKPGQAPRLLIYSA STRATGIPARFSGSGS TEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHHVWPLTFGGGT KVEIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVESGG GVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKGPLQEPPY DYGMDVWGQGTTVTVSS	Анти-BCMA scFv
798	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAH LIHWYQQKPGQPPKLLIYLA SNLETGVPARFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDA AIYYCLQSRIFPRTFGQ GTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGS ELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSINWVRQAPG QGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFLDTS VSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYW GQGLTVTVSS	Анти-BCMA scFv
799	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAH LIHWYQQKPGQPPKLLIYLA SNLETGVPARFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDA AIYYCLQSRIFPRTFGQ GTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGS ELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSINWVRQAPG	Анти-BCMA scFv

	QGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFSLDTS VSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYW GQGTLVTVSS	
800	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAH LIHWYQQKPGQPPLLIYLASNLETGVPARFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDAIIYYCLQSRIFPRTFGQ GTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGS ELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSINWVRQAPG QGLEWMGWINTETREPAYAYDFRGRFVFSLDTS VSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYSYAMDYW GQGTLVTVSS	Анти-BCMA scFv
801	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHG MSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKG RFTISRDNRSNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGG SDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQG TKVEIK	Анти-BCMA scFv
802	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYA MSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVK GRFTISRDNRSNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR SPAHHYGGMDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGR ASGGGGSDIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQ SISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSP SWTFGQGTKLEIK	Анти-BCMA scFv
803	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHG MSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKG RFTISRDNRSNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGG SDIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDINKFLN WYHQTGPKAPKLLIYDASTLQTGVPSRFSGSGS GTDFTLTINSLQPEDIGTYCYCQYESLPLTFGGGT KVEIK	Анти-BCMA scFv

804	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHG MSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKG RFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGG SEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIGSSSLA WYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPTFGQ GTKVEIK	Анти-BCMA scFv
805	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSIN WVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRG RFAFSLETSASTAYLQINNPKYEDTATYFCALDY SYAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPASLMSLGKRATISCRASESVSVIGAH LIHWYQQKPGQPPLLIYLASNLETGVPARFSGS GSGTDFTLTIDPVEEDDVAIYSCLSRIFPRTFGG GTKLEIK	Анти-BCMA scFv
806	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSM NWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKG RFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDY LYSLDFWGQGTALTVSSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPPSLMSLGKRATISCRASESVTILGSH LIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGS GSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFG GGTKLEIK	Анти-BCMA scFv
807	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSM NWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKG RFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCSNDY LYSCDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGS DIVLTQSPPSLMSLGKRATISCRASESVTILGSH LIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGS GSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFG GGTKLEIK	Анти-BCMA scFv
808	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFPDY YINWVRQAPGQGLEWMGWYIFASGNSEYNQKF TGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSEDVAVYFCAS	Анти-BCMA scFv

	LYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSI YPWTFGQGTKLEIK	
809	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSPFDY YINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKF TGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSED TAVYFCAS LYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSI YPWTFGQGTKLEIK	Анти-BCMA scFv
810	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSPFDY YINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKF TGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSED TAVYFCAS LYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSI YPWTFGQGTKLEIK	Анти-BCMA scFv
811	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSPFDY YINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKF TGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSED TAVYFCA SLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSL VHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSG VPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAE TSHVPWTFGQGTKLEIK	Анти-BCMA scFv
812	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSPFDY YINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKF TGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSED TAVYFCA SLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSL VHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFSG	Анти-BCMA scFv

	VPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAE TSHVPWTFGQGTKLEIK	
813	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSPFDY YINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKF TGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDNAVYFCA SLYDYDWYFDVWGQGTMTVSSGGGGSGGGG SGGGGSDIVMTQTPLSLVTPGEPASISCKSSQSL VHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAE TSHVPWTFGQGTKLEIK	Анти-BCMA scFv
814	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTLDYYA IGWFRQAPGKEREGVICISRSRGSTYYADSVKGR FTISRDNAAKTVYLMISLKPEDTAAYYCAAGA DCSGYLRDYEFRGQGTQVTVSS	Анти-BCMA VH
815	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGR VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGG YYSHDMWSEDWGQGTQVTVSS	Анти-BCMA VH
816	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDNAVYYCAR AEMGAVFDIWGQGTMTVTVSS	Анти-BCMA VH
817	QVQLVESGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDNAVYYCA RDGTYLGGLWYFDLWGRGTLTVTVSS	Анти-BCMA VH
818	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY YMHWVRQAPGQGLEWMGIINPGGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSSTVYMELSSLRSEDNAVYYCA RESWPMDVWGQGTQVTVTVSS	Анти-BCMA VH
819	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSY WGWIRQPPGKGLEWIGSISYSGSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADNAVYYCARGR YATSLAFDIWGQGTMTVTVSS	Анти-BCMA VH

820	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYS MNWVRQAPGKGLEWVSTISSSSSTIYYADSVKG RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARG SQEHLIFDYWGQGTLLTVSS	Анти-BCMA VH
821	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RTDFWSGSPGLDYWGQGTLLTVSS	Анти-BCMA VH
822	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYA ISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQG RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARTP EYSSSIWHYYYGMDVWGQGTLLTVSS	Анти-BCMA VH
823	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYG MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCV KGPLQEPPYDYGMDVWGQGTLLTVSS	Анти-BCMA VH
824	QVQLVQSGSELKKPGASVKVCKASGYTFDYS INWVRQAPGQGLEWMGWINTETREPAYAYDFR GRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARD YSYAMDYWGQGTLLTVSS	Анти-BCMA VH
825	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHG MSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTLLTVSS	Анти-BCMA VH
826	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYA MSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRDEDVAVYYCAR SPAHHYYGGMDVWGQGTLLTVSS	Анти-BCMA VH
827	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHG MSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTLLTVSS	Анти-BCMA VH
828	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHG MSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKG	Анти-BCMA VH

	RFTISRDNRSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHG GESDVWGQGTTVTVSS	
829	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSM NWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYADDFKG RFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDY LYSLDFWGQGTALTIVSS	Анти-BCMA VH
830	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSM NWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYADDFKG RFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCSNDY LYSCDYWGQGTTLTVSS	Анти-BCMA VH
831	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSPFDY YINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKF TGRVTMTRDTSINTAYMELSSLTSEDNAVYFCAS LYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSS	Анти-BCMA VH
832	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSPFDY YINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKF TGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDNAVYFCA SLYDYDWYFDVWGQGTMTVTVSS	Анти-BCMA VH
833	LPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGRSSNIGSNVSVN WYRQLPGAAPKLLIYSNNQRPPGVPVRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEATYYCATWDDNLNVHYV FGTGTKVTVLG	Анти-BCMA VL
834	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRILA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRISWPFTFGGGT KVEIK	Анти-BCMA VL
835	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGY NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFS GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLGLPL TFGGGTKVEIK	Анти-BCMA VL
836	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLA WYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSG TEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYAAAYPTFGGGTK VEIK	Анти-BCMA VL

837	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRHVWPPTFGGG TKVEIK	Анти-BCMA VL
838	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLE WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRFYYPWTFGGG TKVEIK	Анти-BCMA VL
839	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQIYTFPFTFGGGT KVEIK	Анти-BCMA VL
840	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQFAHT PFTFGGGTKVEIK	Анти-BCMA VL
841	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLA WYQQKPGQAPRLLIYSASTRATGIPARFSGSGSG TEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQHHVWPLTFGGGT KVEIK	Анти-BCMA VL
842	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVSVIGAH LIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLETGVPARFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDAAIYYCLQSRIFPRTFGQ GTKLEIK	Анти-BCMA VL
843	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTK VEIK	Анти-BCMA VL
844	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSISSSFLA WYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQG TKLEIK	Анти-BCMA VL
845	DIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDINKFLNW YHQTGKAPKLLIYDASTLQTVPSRFSGSGSGT	Анти-BCMA VL

	DFTLTINSLQPEDIGTYYCQQYESLPLTFGGGTK VEIK	
846	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSIGSSSLA WYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPTFGQ GTKVEIK	Анти-BCMA VL
847	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSH LIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGS GSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTPRTFG GGTKLEIK	Анти-BCMA VL
848	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGN TYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGDFTLKISRVEAEDVGIYYCSQSSIYPWTF GQGTKLEIK	Анти-BCMA VL
849	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGN TYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFS GSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVPW TFGQGTKLEIK	Анти-BCMA VL
850	atgcttctcctggtgacaagccttctgctctgtgagttaccacaccagcatc ctctgatccca	Сигнальная последовательность альфа- цепи GMCSFR
851	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP	Сигнальный пептид альфа- цепи GMCSFR
852	MALPVTALLPLALLHA	Сигнальный пептид CD8- альфа
853	MPLLLLLPLLWAGALA	Сигнальный пептид CD33
854	aagtttcttctgtattccagactgaccgtggataaatctc	Оптимизированный сайт акцептора сплайсинга
855	GAGTCTAAATACGGACCGCCTTGTCTCCTTG TCCAGCTCCTCCTGTTGCCGGACCTCCGTGTT CCTGTTTCCTCCAAGCCTAAGGACACCCTGA TGATCAGCAGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTG GTGGTGGATGTGTCCCAAGAGGATCCCGAGGT GCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAG	Спейсер - кодон- оптимизированный (нт)

	<p>TGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGA  ACAGTTCCAGAGCACCTACAGAGTGGTGTCCG  TGCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAAC  GGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACA  AGGGCCTGCCTAGCAGCATCGAGAAAACCATC  TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAGCCCC  AGGTTTACACACTGCCTCCAAGCCAAGAGGAA  ATGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACATGCCT  GGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCG  TGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAA  CAACTACAAGACCACACCTCCTGTGCTGGACA  GCGACGGCAGTTTCTTCCTGTATAGTAGACTC  ACCGTGGATAAATCAAGATGGCAAGAGGGCA  ACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCC  CTGCACAACCACTACACCCAGAAAAGCCTGAG  CCTGTCTCTGGGCAA</p>	
856	<p>gaatctaagtacggaccgctgtcctcctgtcccgtcctcctgttgccgg  accttccgtgttctgtttcctccaaagcctaaggacacctgatgatcagca  ggaccctgaagtacgtcgtggtggatgttccaagaggatcccg  aggtgcagttcaactggtatgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaag  accaagcctagagaggaacagttccagagcacctacagagtgggtgtccgt  gctgacagtgtgcaccaggattggctgaacggcaagagtacaagtgca  aggtgtccaacaagggcctgcctagcagcatcgagaaaacctctccaag  gccaagggccagccaagagagccccaggtttacacactgcctccaagcca  agaggaaatgaccaagaatcaggtgtcctgacatgcctggtcaagggtt  ctaccctccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgaga  acaactacaagaccacacctcctgtgctggacagcgacggcagtttcttct  gtatagtagactaccgtggataaatcaagatggcaagagggaacgtgttc  agctgcagcgtgatgcacgagccctgcacaaccactaccccagaaaag  cctgagcctgtctctgggcaag</p>	<p>Альтернативный КО/ЭСС  спейсер (нт)</p>

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Химерный антигенный рецептор, содержащий: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген созревания В-клеток (BCMA); (b) спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

2. Химерный антигенный рецептор по п. 1, при этом спейсер содержит часть константной области иммуноглобулина.

3. Химерный антигенный рецептор по п. 1 или п. 2, при этом спейсер содержит последовательность шарнирной области, области CH2 и области CH3.

4. Химерный антигенный рецептор по п. 3, при этом шарнирная область содержит всю или часть шарнирной области IgG4 и/или шарнирной области IgG2, при этом шарнирная область IgG4, необязательно, представляет собой шарнирную область IgG4 человека, и шарнирная область IgG2, необязательно, представляет собой шарнирную область IgG2 человека;

область CH2 содержит всю или часть области CH2 IgG4 и/или области CH2 IgG2, при этом область CH2 IgG4, необязательно, представляет собой область CH2 IgG4 человека, и область CH2 IgG2, необязательно, представляет собой область CH2 IgG2 человека; и/или

область CH3 содержит всю или часть области CH3 IgG4 и/или области CH3 IgG2, при этом область CH3 IgG4, необязательно, представляет собой область CH3 IgG4 человека, и область CH3 IgG2, необязательно, представляет собой область CH3 IgG2 человека.

5. Химерный антигенный рецептор по п. 3 или п. 4, при этом шарнир, CH2 и CH3 содержат полностью или частично каждое из шарнирной области, CH2 и CH3 из IgG4.

6. Химерный антигенный рецептор по п. 3 или п. 4, при этом: шарнирная область является химерной и содержит шарнирную область из IgG4 человека и IgG2 человека;

область CH2 является химерной и содержит область CH2 из IgG4 человека и IgG2 человека; и/или

область CH3 является химерной и содержит область CH3 из IgG4 человека и IgG2 человека.

7. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-6, при этом спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4, имеющий по меньшей мере одну аминокислотную замену в сравнении с шарнирной областью IgG4 человека; химерную область CH2 IgG2/4 человека и область CH3 IgG4 человека.

8. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-4, 6 и 7, при этом спейсер представляет собой или содержит (i) последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (ii) функциональный вариант SEQ ID NO: 649, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 649; или (iii) непрерывный фрагмент из (i) или (ii) длиной по меньшей мере 125 аминокислот.

9. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-3 и 6-8, при этом спейсер представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649.

10. Химерный антигенный рецептор, содержащий: (а) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген созревания В-клеток (BCMA); (b) спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

11. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-10, при этом антигенсвязывающий домен представляет собой фрагмент антитела, содержащий переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL).

12. Химерный антигенный рецептор по п. 11, при этом:

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 617, 115, 256, 519 или 609; и

область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 618, 267, 535, 536 или 610.

13. Химерный антигенный рецептор по п. 11 или п. 12, при этом:

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 256 и 267, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 256 и 267, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 519 и 535, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 519 и 535, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 115 и 536, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 115 и 536, соответственно; или

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно.

14. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-13, при этом область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по

меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно.

15. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-13, при этом:

область VH содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2) и определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 617, 115, 256, 519 или 609; и

область VL содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2) и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 618, 267, 535, 536 или 610.

16. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-15, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 618.

17. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-13 и 15, при этом:

область VH содержит (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1, 2, 507 или 593; (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4, 5, 513 или 594; и (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7, 10, 157, 517 или 595; и

область VL содержит (a) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 33, 178, 380, 589 или 601; (b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 43, 183, 400, 590 или 602; и (c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 194, 416, 421, 591 или 603.

18. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-13, 15 и 17, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178, 183 и 194, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 380, 400

и 416, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 421, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 589, 590 и 591, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

19. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-18, при этом область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно.

20. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-13, 15, 17 и 18, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 617, 115, 256, 519 или 609; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 618, 267, 535, 536 или 610.

21. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-13, 15, 17, 18 и 20, при этом:

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618;

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 256; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 267;

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность,

приведенную в SEQ ID NO: 519; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 535;

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 115; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 536; или

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 609; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 610.

22. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-21, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно; и

область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

23. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-22, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618.

24. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-23, при этом фрагмент включает scFv.

25. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-24, при этом область VH и область VL соединены гибким линкером.

26. Химерный антигенный рецептор по п. 25, при этом scFv содержит линкер, содержащий аминокислотную последовательность GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 361).

27. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-26, при этом область VH является амино-концевой по отношению к области VL.

28. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-27, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 478, 128-139, 268-278, 329, 442, 558-576, 578-583, 585 или 769-771, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 478, 128-139, 268-278, 329, 442, 558-576, 578-583, 585 или 769-771.

29. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-28, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 478, 278, 559, 560 или 442, или аминокислотную

последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 478, 278, 559, 560 или 442.

30. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-29, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 478, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 478.

31. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-30, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 478.

32. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-31, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит (a) нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 648, 352, 647, 716 или 718; (b) нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 648, 352, 647, 716 или 718; или (c) вырожденную последовательность из (a) или (b).

33. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-32, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 460, 440, 715, 717 или 719.

34. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-33, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 460.

35. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 11-26, при этом область VH является карбокси-концевой по отношению к области VL.

36. Химерный антигенный рецептор, содержащий:

(1) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически связывающий человеческий антиген созревания В-клеток (BCMA), при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и

(ii) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 618;

(2) спейсер, содержащий химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область CH2 IgG2/4 и область CH3 IgG4, необязательно, имеющий длину примерно 228 аминокислот; или спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649;

(3) трансмембранный домен, необязательно, трансмембранный домен из человеческого CD28; и

(4) внутриклеточную сигнальную область, содержащую цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ) и внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы.

37. Химерный антигенный рецептор по п. 36, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 618;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

38. Химерный антигенный рецептор, содержащий:

(1) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически связывающий человеческий антиген созревания В-клеток (BCMA), при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит:

вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 618; или

область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие

аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или

область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно;

(2) спейсер, содержащий химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область CH2 IgG2/4 и область CH3 IgG4, необязательно, имеющий длину примерно 228 аминокислот; или спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649;

(3) трансмембранный домен, необязательно, трансмембранный домен из человеческого CD28; и

(4) внутриклеточную сигнальную область, содержащую цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ) и внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы.

39. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 36-38, при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит область VH с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 617, и область VL с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 618.

40. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-35, при этом внутриклеточная сигнальная область содержит активирующий цитоплазматический сигнальный домен.

41. Химерный антигенный рецептор по п. 40, при этом активирующий цитоплазматический сигнальный домен способен индуцировать основной сигнал активации в Т-клетке, представляет собой компонент Т-клеточного рецептора (TCR) и/или содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM).

42. Химерный антигенный рецептор по п. 40 или п. 41, при этом активирующий цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент.

43. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 40-42, при этом активирующий цитоплазматический домен является человеческим или получен из человеческого белка.

44. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 36-39, 42 и 43, при этом цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную

последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628.

45. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 40-44, при этом внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующую сигнальную область.

46. Химерный антигенный рецептор по п. 45, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы или его сигнальный фрагмент.

47. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 36-39, 45 и 46, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS, или его сигнальный фрагмент.

48. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 36-39 и 45-47, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB.

49. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 36-39 и 45-48, при этом костимулирующая сигнальная область является человеческой или получена из человеческого белка.

50. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 36-39 и 45-49, при этом костимулирующая сигнальная область представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 626, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 626.

51. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 36-50, при этом костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и внутриклеточной сигнальной областью.

52. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-51, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен из CD4, CD28 или CD8.

53. Химерный антигенный рецептор по п. 52, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен из CD28.

54. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-53, при этом трансмембранный домен является человеческим или получен из человеческого белка.

55. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-54, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 624, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 624.

56. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-55, при этом химерный антигенный рецептор содержит, от его N- к C-концу, в следующем порядке: антигенсвязывающий домен, спейсер, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен.

57. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-56, при этом (а) антигенсвязывающий домен химерного антигенного рецептора способен связывать ВСМА, экспрессированный на поверхности клетки-мишени, или (b) величина, являющаяся показателем функции или активности закодированного химерного антигенного рецептора, после воздействия на клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор, клетками, экспрессирующими на поверхности ВСМА, не уменьшается, или не блокируется, или существенно не уменьшается или не блокируется, в присутствии концентрации, или количества, растворимой или отделившейся от мембраны формы ВСМА, при этом концентрация, или количество, представляет собой концентрацию, или количество, способную вызывать блокирование или уменьшение, или существенное блокирование или уменьшение связывания, или величины функции или активности, характерных для эталонного анти-ВСМА рекомбинантного рецептора или эталонного анти-ВСМА связывающего домена в одинаковых или практически одинаковых условиях, или представляет собой концентрацию, или количество, в биологическом образце.

58. Химерный антигенный рецептор по п. 57, при этом концентрация, или количество, растворимой или отделившейся от мембраны формы ВСМА:

представляет собой концентрацию, или количество, в сыворотке или крови, или плазме у субъекта, или пациента с множественной миеломой, или среднюю концентрацию, или количество, в сыворотке, крови или плазме пациентов в популяции пациентов, имеющих множественную миелому, или ее подтип, или в их субпопуляции, или

представляет собой концентрацию, или количество, при которой связывание, или величина, уменьшается или блокируется, или существенно уменьшается или блокируется, в случае эталонного анти-ВСМА рекомбинантного рецептора, необязательно, эталонного анти-ВСМА CAR, в одинаковых или практически одинаковых условиях.

59. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-58, закодированный полинуклеотидной последовательностью, содержащей последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 751-756, или последовательностью, имеющей по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 751-756.

60. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-59, закодированный полинуклеотидной последовательностью, содержащей последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 755 и 756, или последовательностью, имеющей по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 755 и 756.

61. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-60, закодированный полинуклеотидной последовательностью, содержащей последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 755, или последовательностью, имеющей по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с ней.

62. Химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-61, закодированный полинуклеотидной последовательностью, содержащей последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 755.

63. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-62.

64. Полинуклеотид по п. 63, при этом после экспрессии полинуклеотида в человеческой клетке, необязательно, человеческой Т-клетке, РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

65. Полинуклеотид по п. 63 или п. 64, при этом закодированный химерный антигенный рецептор содержит спейсер, содержащий химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область CH2 IgG2/4 и область CH3 IgG4, необязательно, имеющий длину примерно 228 аминокислот; или спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649, или функциональный вариант SEQ ID NO: 649, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 649.

66. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (а) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген; (b) спейсер длиной по меньшей мере 125 аминокислот; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область, при этом после экспрессии полинуклеотида в человеческой клетке, необязательно, человеческой Т-клетке, транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

67. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-66, при этом закодированный спейсер содержит часть иммуноглобулина.

68. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-67, при этом закодированный спейсер содержит последовательность шарнирной области, области CH2 и области CH3.

69. Полинуклеотид по любому из пунктов 63, 64 и 66-68, при этом шарнирная область содержит всю или часть шарнирной области IgG4 и/или шарнирной области IgG2, при этом шарнирная область IgG4, необязательно, представляет собой шарнирную область IgG4 человека, и шарнирная область IgG2, необязательно, представляет собой шарнирную область IgG2 человека;

область CH2 содержит всю или часть области CH2 IgG4 и/или области CH2 IgG2, при этом область CH2 IgG4, необязательно, представляет собой область CH2 IgG4 человека, и область CH2 IgG2, необязательно, представляет собой область CH2 IgG2 человека; и/или

область CH3 содержит всю или часть области CH3 IgG4 и/или области CH3 IgG2, при этом область CH3 IgG4, необязательно, представляет собой область CH3 IgG4 человека, и область CH3 IgG2, необязательно, представляет собой область CH3 IgG2 человека.

70. Полинуклеотид по любому из пунктов 63, 64 и 66-69, при этом шарнир, CH2 и CH3 содержат полностью или частично каждое из шарнирной области, CH2 и CH3 из IgG4.

71. Полинуклеотид по любому из пунктов 63, 64 и 66-69, при этом:

шарнирная область является химерной и содержит шарнирную область из IgG4 человека и IgG2 человека;

область CH2 является химерной и содержит область CH2 из IgG4 человека и IgG2 человека; и/или

область CH3 является химерной и содержит область CH3 из IgG4 человека и IgG2 человека.

72. Полинуклеотид по любому из пунктов 63, 64 и 66-71, при этом спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4, имеющий по меньшей мере одну аминокислотную замену в сравнении с шарнирной областью IgG4 человека; химерную область CH2 IgG2/4 человека и область CH3 IgG4 человека.

73. Полинуклеотид по любому из пунктов 63, 64 и 66-72, при этом закодированный спейсер представляет собой или содержит (i) последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (ii) функциональный вариант SEQ ID NO: 649, имеющий по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 649; или (iii) непрерывный фрагмент из (i) или (ii) длиной по меньшей мере 125 аминокислот.

74. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-73, при этом закодированный спейсер представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649.

75. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-74, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая спейсер, содержит по меньшей мере один модифицированный сайт донора сплайсинга и/или сайт акцептора сплайсинга, при этом указанный модифицированный сайт донора сплайсинга и/или акцептора сплайсинга имеет одну или более нуклеотидных модификаций относительно эталонного сайта донора сплайсинга и/или эталонного сайта акцептора сплайсинга, содержащихся в последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 621.

76. Полинуклеотид по п. 75, при этом одна или более нуклеотидных модификаций включают нуклеотидную замену.

77. Полинуклеотид по п. 75 или п. 76, при этом эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга являются каноническими, неканоническими или скрытыми сайтами сплайсинга.

78. Полинуклеотид по любому из пунктов 75-77, при этом:

эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга имеет(ют) показатель прогнозирования сайта сплайсинга, составляющий по меньшей мере или примерно 0,4, 0,5, 0,6, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 0,99 или 1,0; и/или

эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга, согласно предсказанию, вовлечен(ы) в событие сплайсинга с вероятностью по меньшей мере 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100%.

79. Полинуклеотид по любому из пунктов 75-78, при этом:

эталонный сайт донора сплайсинга содержит последовательность aatctaagtagcgac (SEQ ID NO: 705), tcaactggtacgtgg (SEQ ID NO: 706), acaattagtaggca (SEQ ID NO: 707) и/или accacaggtgtatac (SEQ ID NO: 708); и/или

эталонный сайт акцептора сплайсинга содержит последовательность aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID NO: 742) и/или gggcaacgtgttctcttgcagtgcatgcacgaagccctgc (SEQ ID NO: 743).

80. Полинуклеотид по любому из пунктов 75-78, при этом:

эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга имеет(ют) показатель прогнозирования сайта сплайсинга, составляющий по меньшей мере или примерно 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,95, 0,99 или 1,0; и/или

эталонный сайт донора сплайсинга и/или эталонный сайт акцептора сплайсинга, согласно предсказанию, вовлечен(ы) в событие сплайсинга с вероятностью по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100%.

81. Полинуклеотид по любому из пунктов 75-78 и 80, при этом:

эталонный сайт донора сплайсинга содержит последовательность tcaactggtacgtgg (SEQ ID NO: 706); и/или

эталонный сайт акцептора сплайсинга содержит последовательность aagtttctttctgtattccaggctgaccgtggataaatctc (SEQ ID NO: 742).

82. Полинуклеотид по любому из пунктов 75-81, при этом по меньшей мере одна из одной или более нуклеотидных модификаций находится в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков от границы сайта сплайсинга эталонного сайта акцептора сплайсинга и/или эталонного сайта донора сплайсинга.

83. Полинуклеотид по любому из пунктов 75-82, при этом одна или более нуклеотидных модификаций являются молчащими и/или приводят к вырожденному кодону в сравнении с SEQ ID NO: 621, и/или не изменяют аминокислотную последовательность закодированного спейсера.

84. Полинуклеотид по любому из пунктов 75-83, при этом:

модифицированный сайт донора сплайсинга имеет последовательность agtctaaatacggac (SEQ ID NO: 661), tcaactggtatgtgg (SEQ ID NO: 662), accatctccaaggcc (SEQ ID NO: 663) и/или gccccaggtttacac (SEQ ID NO: 664); и/или

модифицированный сайт акцептора сплайсинга имеет последовательность cagtttcttctgtatagtagactcacctggataaatca (SEQ ID NO: 672), gggcaacgtgttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgc (SEQ ID NO: 673) и/или cgccttgctctccttgctcccgcctcctctgttgccggacct (SEQ ID NO: 766).

85. Полинуклеотид по любому из пунктов 75-84, при этом модифицированный сайт донора сплайсинга имеет последовательность tcaactggtatgtgg (SEQ ID NO: 662) и/или модифицированный акцепторный сайт имеет последовательность cagtttcttctgtatagtagactcacctggataaatca (SEQ ID NO: 672) и/или cgccttgctctccttgctcccgcctcctctgttgccggacct (SEQ ID NO: 766).

86. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-85, при этом спейсер закодирован нуклеотидной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 622, или ее фрагментом.

87. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор и содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (а) внеклеточный антигенсвязывающий домен,

специфически узнающий антиген; (b) спейсер, при этом кодирующая нуклеиновая кислота представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 622, или кодирует аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

88. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор и содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую: (a) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически узнающий антиген; (b) спейсер, при этом кодирующая нуклеиновая кислота состоит или состоит в основном из последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 622, или кодирует аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 649; (c) трансмембранный домен; и (d) внутриклеточную сигнальную область.

89. Полинуклеотид по п. 87 или п. 88, при этом после экспрессии полинуклеотида в клетке транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

90. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-89, при этом после экспрессии в человеческой клетке, необязательно, человеческой Т-клетке, транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с полинуклеотида имеет сниженную гетерогенность в сравнении с гетерогенностью мРНК, транскрибированной с эталонного полинуклеотида, кодирующего ту же аминокислотную последовательность, что и полинуклеотид, при этом эталонный полинуклеотид отличается присутствием одного или более сайтов донора сплайсинга и/или одного или более сайтов акцептора сплайсинга в нуклеиновой кислоте, кодирующей спейсер, и/или имеет одну или более нуклеотидных модификаций в сравнении с полинуклеотидом, и/или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 621.

91. Полинуклеотид по п. 90, при этом гетерогенность РНК снижена на более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более.

92. Полинуклеотид по п. 90 или п. 91, при этом транскрибированная РНК, необязательно, матричная РНК (мРНК), с эталонного полинуклеотида имеет гетерогенность РНК более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более.

93. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-92, при этом гомогенность и/или гетерогенность РНК определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или жидкостной хроматографии.

94. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-93, который является кодон-оптимизированным для экспрессии в человеческой клетке.

95. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-94, при этом антиген связан с заболеванием или состоянием, или экспрессируется в клетках, окружающих лезию, связанную с заболеванием или состоянием.

96. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-95, при этом заболевание или

состояние представляет собой рак.

97. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-96, при этом заболевание или состояние представляет собой миелому, лейкоз или лимфому.

98. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-97, при этом антиген представляет собой антиген созревания В-клеток (BCMA), ROR1, карбоангидразу 9 (CAIX), tEGFR, Her2/neu (рецептор тирозинкиназы erbB2), L1-CAM, CD19, CD20, CD22, мезотелин, CEA и поверхностный антиген вируса гепатита В, антифолатный рецептор, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, эпителиальный гликопротеин 2 (EPG-9), эпителиальный гликопротеин 40 (EPG-40), EPHa2, erb-B2, erb-B3, erb-B4, димеры erbB, EGFR vIII, фолат-связывающий белок (FBP), FCRL5, FCRH5, эмбриональный ацетилхолиновый рецептор, GD2, GD3, представитель D класса C группы 5 связанных с G-белками рецепторов (GPCR5D), HMW-MAA, IL-92R-альфа, IL-13R-альфа 2, рецептор домена киназной вставки (kdr), легкую цепь каппа, Lewis Y, L1-молекулу клеточной адгезии, (L1-CAM), меланома-ассоциированный антиген (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), сурвивин, TAG72, B7-H6, рецептор альфа 2 IL-13 (IL-13Ra2), CA9, GD3, HMW-MAA, CD171, G250/CAIX, HLA-AI MAGE A1, HLA-A2 NY-ESO-1, PSCA, фолатный рецептор  $\alpha$ , CD44v6, CD44v7/8 интегрин avb6, 8H9, NCAM, рецепторы VEGF, 5T4, эмбриональный AchR, лиганды NKG2D, CD44v6, двойной антиген, раково-тестикулярный антиген, мезотелин, мышинный CMV, муцин 1 (MUC1), MUC16, PSCA, NKG2D, NY-ESO-1, MART-1, gp100, онкоэмбриональный антиген, ROR1, TAG72, VEGF-R2, карциноэмбриональный антиген (CEA), Her2/neu, рецептор эстрогена, рецептор прогестерона, эфрин B2, CD123, c-Met, GD-9, O-ацетилированный GD2 (OGD2), CE7, антиген опухоли Вильмса 1 (WT-1), циклин, циклин A2, CCL-1, CD138, специфический для патогена антиген.

99. Полинуклеотид по п. 98, при этом антиген представляет собой антиген созревания В-клеток (BCMA).

100. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-99, при этом закодированный антигенсвязывающий домен представляет собой фрагмент антитела, содержащий переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL).

101. Полинуклеотид по п. 100, при этом:

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в любой из SEQ ID NO: 617, 115, 256, 519 или 609; и

область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 618, 267, 535, 536 или 610.

102. Полинуклеотид по п. 100 или п. 101, при этом:

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности,

приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 256 и 267, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 256 и 267, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 519 и 535, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 519 и 535, соответственно;

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 115 и 536, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 115 и 536, соответственно; или

область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 609 и 610, соответственно.

103. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-102, при этом область VH и область VL содержат аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно, или аминокислотные последовательности, имеющие по меньшей мере 90% идентичность с SEQ ID NO: 617 и 618, соответственно.

104. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-102, при этом:

область VH содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1), определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (CDR-H2) и определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (CDR-H3), содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, выбранной из любой из SEQ ID NO: 617, 115, 256, 519 или 609; и

область VL содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1), определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (CDR-L2) и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (CDR-L3), содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, выбранной из любой из SEQ ID NO: 618, 267, 535, 536 или 610.

105. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-104, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 618.

106. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-102 и 104, при этом:

область VH содержит (а) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1, 2, 507 или 593; (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 4, 5, 513 или 594; и (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 7, 10, 157, 517 или 595; и

область VL содержит (а) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 33, 178, 380, 589 или 601; (b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 43, 183, 400, 590 или 602; и (c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 194, 416, 421, 591 или 603.

107. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-102, 104 и 106, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 157, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178, 183 и 194, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 4 и 7, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 380, 400 и 416, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 2, 5 и 10, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 33, 43 и 421, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 507, 513 и 517, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 589, 590 и 591, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

108. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-107, при этом область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно.

109. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-102, 104, 106 и 107, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 617, 115, 256, 519 или 609; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 618, 267, 535, 536 или 610.

110. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-102, 104, 106, 107 и 109, при этом: область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 617; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618;

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 256; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 267;

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 519; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 535;

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 115; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 536; или

область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 609; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 610.

111. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-110, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно; или область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно; и

область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

112. Полинуклеотид по любому из пунктов 110-111, при этом область VH представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в

SEQ ID NO: 617; и область VL представляет собой или содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 618.

113. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-112, при этом фрагмент включает scFv.

114. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-113, при этом область VH и область VL соединены гибким линкером.

115. Полинуклеотид по п. 114, при этом scFv содержит линкер, содержащий аминокислотную последовательность GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 361).

116. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-115, при этом область VH является амино-концевой по отношению к области VL.

117. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-116, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 478, 278, 559, 560 или 442, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из любой из SEQ ID NO: 478, 278, 559, 560 или 442.

118. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-117, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 478, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 478.

119. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-118, при этом антигенсвязывающий домен содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 478.

120. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-119, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит (a) нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 648, 352, 647, 716 или 718; (b) нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с любой из SEQ ID NO: 648, 352, 647, 716 или 718; или (c) вырожденную последовательность из (a) или (b).

121. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-120, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 460, 440, 715, 717 или 719.

122. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-121, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая антигенсвязывающий домен, содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 460.

123. Полинуклеотид по любому из пунктов 100-116, при этом область VH является карбокси-концевой по отношению к области VL.

124. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую:

- (1) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически связывающий

человеческий антиген созревания В-клеток (BCMA), при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и

(ii) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с аминокислотной последовательностью области VL, приведенной в любой из SEQ ID NO: 618;

(2) спейсер, содержащий химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область CH2 IgG2/4 и область CH3 IgG4, необязательно, имеющий длину примерно 228 аминокислот; или спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649;

(3) трансмембранный домен, необязательно, трансмембранный домен из человеческого CD28; и

(4) внутриклеточную сигнальную область, содержащую цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ) и внутриклеточный сигнальный домен T-клеточной костимулирующей молекулы.

125. Полинуклеотид по п. 124, при этом:

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 618;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или

область VH содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно.

126. Полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор, содержащий

нуклеиновую кислоту, кодирующую:

(1) внеклеточный антигенсвязывающий домен, специфически связывающий человеческий антиген созревания В-клеток (BCMA), при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит:

вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO: 617; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VL, приведенной в SEQ ID NO: 618; или

область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 593, 594 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 596, 597 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно;

область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599 и 595, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 601, 602 и 603, соответственно; или

область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 611, 612 и 613, соответственно, и область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615 и 603, соответственно;

(2) спейсер, содержащий химерный шарнир IgG4/2 или модифицированный шарнир IgG4; химерную область CH2 IgG2/4 и область CH3 IgG4, необязательно, имеющий длину примерно 228 аминокислот; или спейсер, имеющий SEQ ID NO: 649;

(3) трансмембранный домен, необязательно, трансмембранный домен из человеческого CD28; и

(4) внутриклеточную сигнальную область, содержащую цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3ζ) и внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы.

127. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-126, при этом внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит область VH с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 617, и область VL с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 618.

128. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-123, при этом внутриклеточная сигнальная область содержит активирующий цитоплазматический сигнальный домен.

129. Полинуклеотид по п. 128, при этом активирующий цитоплазматический

сигнальный домен способен индуцировать основной сигнал активации в Т-клетке, представляет собой компонент Т-клеточного рецептора (TCR) и/или содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM).

130. Полинуклеотид по п. 128 или п. 129, при этом активирующий цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3 (CD3 $\zeta$ ), или его функциональный вариант или сигнальный фрагмент.

131. Полинуклеотид по любому из пунктов 128-130, при этом активирующий цитоплазматический домен является человеческим или получен из человеческого белка.

132. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127, 130 и 131, при этом цитоплазматический сигнальный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628.

133. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127 и 130-132, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая цитоплазматический сигнальный домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 627, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность.

134. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127 и 130-133, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая цитоплазматический сигнальный домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 652.

135. Полинуклеотид по любому из пунктов 128-134, при этом внутриклеточная сигнальная область дополнительно содержит костимулирующую сигнальную область.

136. Полинуклеотид по п. 135, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы или его сигнальный фрагмент.

137. Полинуклеотид по п. 124-127, 135 и 136, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, 4-1BB или ICOS, или его сигнальный фрагмент.

138. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127 и 135-137, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB.

139. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127 и 135-138, при этом костимулирующая сигнальная область является человеческой или получена из человеческого белка.

140. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127 и 135-139, при этом костимулирующая сигнальная область представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 626, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 626.

141. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127 и 135-140, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая костимулирующую область, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 625, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность.

142. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127 и 135-141, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая костимулирующую сигнальную область, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 681.

143. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-139, при этом внутриклеточная сигнальная область содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628, и последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 626, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 626.

144. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-139 и 143, при этом внутриклеточная сигнальная область представляет собой или содержит последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 628 и SEQ ID NO: 626.

145. Полинуклеотид по любому из пунктов 124-127, 135-137, 139 и 144, при этом костимулирующая сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28.

146. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-139 и 145, при этом внутриклеточная сигнальная область содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 628, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 628, и последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 680, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 680.

147. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-139, 145 и 146, при этом внутриклеточная сигнальная область представляет собой или содержит последовательности, приведенные в SEQ ID NO: 628 и SEQ ID NO: 680.

148. Полинуклеотид по любому из пунктов 135-147, при этом костимулирующая сигнальная область находится между трансмембранным доменом и внутриклеточной сигнальной областью.

149. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-148, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен из CD4, CD28 или CD8.

150. Полинуклеотид по п. 149, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит трансмембранный домен из CD28.

151. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-150, при этом трансмембранный

домен является человеческим или получен из человеческого белка.

152. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-151, при этом трансмембранный домен представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 624, или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность последовательности с SEQ ID NO: 624.

153. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-152, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая трансмембранный домен, представляет собой или содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 623, или представляет собой ее кодон-оптимизированную последовательность и/или вырожденную последовательность.

154. Полинуклеотид по п. 153, при этом нуклеиновая кислота, кодирующая трансмембранный домен, содержит последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 688.

155. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-154, при этом закодированный химерный антигенный рецептор содержит, от его N- к C-концу, в следующем порядке: антигенсвязывающий домен, спейсер, трансмембранный домен и внутриклеточную сигнальную область.

156. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-155, при этом полинуклеотид также кодирует укороченный рецептор.

157. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-156, при этом связывание закодированного антигенсвязывающего домена и/или закодированного химерного антигенного рецептора, или величина, являющаяся показателем функции или активности закодированного химерного антигенного рецептора, после воздействия клеток, экспрессирующих на поверхности ВСМА, не уменьшается, или не блокируется, или существенно не уменьшается или не блокируется, в присутствии растворимой или отделившейся от мембраны формы ВСМА.

158. Полинуклеотид по п. 157, при этом концентрация, или количество, растворимой или отделившейся от мембраны формы ВСМА соответствует концентрации, или количеству, имеющей место в сыворотке или крови, или плазме у субъекта, или пациента с множественной миеломой, или в среднем в популяции пациентов с заболеванием или нарушением, или концентрации, или количеству, растворимой или отделившейся от мембраны формы ВСМА, при которой связывание, или величина, уменьшается или блокируется, или существенно уменьшается или блокируется, в случае клеток, экспрессирующих эталонный анти-ВСМА рекомбинантный рецептор, необязательно, эталонный анти-ВСМА CAR, в таком же анализе.

159. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-158, содержащий последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 751-756, или последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 751-756, и закодированный рецептор сохраняет функцию связывания с ВСМА и сохраняет сниженную гетерогенность РНК.

160. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-159, содержащий последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NO: 755 и 756, или последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 755 и 756, и закодированный рецептор сохраняет функцию связывания с ВСМА и сохраняет сниженную гетерогенность РНК.

161. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-160, содержащий последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 755, или последовательность, имеющую по меньшей мере или по меньшей мере примерно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательности с ней, и закодированный рецептор сохраняет функцию связывания с ВСМА и сохраняет сниженную гетерогенность РНК.

162. Полинуклеотид по любому из пунктов 63-161, содержащий последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 755, и закодированный рецептор сохраняет функцию связывания с ВСМА и сохраняет сниженную гетерогенность РНК.

163. Вектор, содержащий полинуклеотид по любому из пунктов 63-162.

164. Вектор по п. 163, представляющий собой вирусный вектор.

165. Вектор по п. 164, при этом вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор.

166. Вектор по п. 164 или п. 165, при этом вирусный вектор представляет собой лентивирусный вектор.

167. Химерный антигенный рецептор, закодированный полинуклеотидом по любому из пунктов 63-162.

168. Генетически модифицированная клетка, содержащая химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-62 и 167.

169. Генетически модифицированная клетка, содержащая полинуклеотид по любому из пунктов 63-162 или вектор по любому из пунктов 163-166.

170. Генетически модифицированная клетка по п. 168 или п. 169, представляющая собой иммунную клетку.

171. Генетически модифицированная клетка по любому из пунктов 168-170, при этом иммунная клетка представляет собой первичную клетку, полученную от субъекта.

172. Генетически модифицированная клетка по п. 170 или п. 171, при этом иммунная клетка представляет собой НК-клетку или Т-клетку.

173. Генетически модифицированная клетка по любому из пунктов 170-172, при этом иммунная клетка представляет собой Т-клетку, и Т-клетка представляет собой CD4+ и/или CD8+ Т-клетку.

174. Генетически модифицированная клетка по любому из пунктов 168-173, содержащая транскрибированную РНК, кодирующую химерный антигенный рецептор, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет гомогенность РНК по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%.

175. Генетически модифицированная клетка по любому из пунктов 168-174, содержащая транскрибированную РНК, кодирующую химерный антигенный рецептор, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет сниженную гетерогенность в сравнении с гетерогенностью транскрибированной мРНК в клетке, кодирующей эталонный химерный антигенный рецептор, при этом указанный эталонный химерный антигенный рецептор содержит ту же аминокислотную последовательность, что и химерный антигенный рецептор, но закодированную иной полинуклеотидной последовательностью, имеющей одно или более нуклеотидных отличий в полинуклеотиде, кодирующем CAR, и/или в которой эталонный химерный антигенный рецептор закодирован полинуклеотидом, содержащим один или более сайтов донора сплайсинга и/или один или более сайтов акцептора сплайсинга в нуклеиновой кислоте, кодирующей спейсер.

176. Генетически модифицированная клетка по п. 175, при этом гетерогенность РНК снижена на более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более.

177. Генетически модифицированная клетка по п. 175 или п. 176, при этом полинуклеотид, кодирующий эталонный CAR, представляет собой транскрибированную РНК, кодирующую эталонный CAR, необязательно, матричную РНК (мРНК), которая имеет гетерогенность РНК более чем или более чем примерно 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, или более.

178. Генетически модифицированная клетка по любому из пунктов 174-177, при этом гомогенность и/или гетерогенность РНК определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или жидкостной хроматографии.

179. Генетически модифицированная клетка по любому из пунктов 168-178, при этом среди множества генетически модифицированных клеток менее чем или менее чем примерно 10%, 9%, 8%, 7%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% клеток во множестве содержат химерный антигенный рецептор, характеризующийся тонической сигнализацией и/или антиген-независимой активностью или сигнализацией.

180. Композиция, содержащая химерный антигенный рецептор по любому из пунктов 1-62 и 167, полинуклеотид по любому из пунктов 63-162 или вектор по любому из пунктов 163-166.

181. Композиция, содержащая генетически модифицированную клетку по любому из пунктов 168-179.

182. Композиция по п. 181, содержащая CD4+ и CD8+ Т-клетки, и соотношение CD4+ и CD8+ Т-клеток составляет от или от примерно 1:3 до 3:1.

183. Композиция по любому из пунктов 180-182, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый эксципиент.

184. Способ лечения, включающий введение генетически модифицированной клетки по любому из пунктов 168-179 или композиции по любому из пунктов 180-183

субъекту, имеющему заболевание или нарушение.

185. Способ по п. 184, включающий введение дозы генетически модифицированных клеток или композиции, содержащей дозу генетически модифицированных клеток.

186. Применение генетически модифицированной клетки по любому из пунктов 168-179 или композиции по любому из пунктов 180-183 для производства лекарственного препарата для лечения заболевания или нарушения.

187. Применение генетически модифицированных клеток по любому из пунктов 168-179 или композиции по любому из пунктов 180-183 для лечения заболевания или нарушения.

188. Применение по п. 186 или п. 187, при этом генетически модифицированные клетки или композиция предназначены для использования в схеме лечения, при этом схема лечения включает введение дозы генетически модифицированных клеток или композиции, содержащей дозу генетически модифицированных клеток.

189. Способ по п. 184 или п. 185, или применение по любому из пунктов 186-188, при этом заболевание или нарушение связано с экспрессией антигена созревания В-клеток (BCMA), необязательно, представляет собой связанное с В-клетками заболевание.

190. Способ или применение по любому из пунктов 184-189, при этом заболевание или нарушение, связанное с BCMA, представляет собой аутоиммунное заболевание или нарушение.

191. Способ или применение по любому из пунктов 185-190, при этом заболевание или нарушение, связанное с BCMA, представляет собой рак.

192. Способ или применение по п. 191, при этом рак представляет собой BCMA-экспрессирующий рак.

193. Способ или применение по п. 191 или п. 192, при этом рак представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование.

194. Способ или применение по любому из пунктов 191-193, при этом рак представляет собой лимфому, лейкоз или злокачественное новообразование из плазматических клеток.

195. Способ или применение по п. 194, при этом рак представляет собой лимфому, и лимфома представляет собой лимфому Беркитта, неходжкинскую лимфому (NHL), лимфому Ходжкина, макроглобулинемию Вальденстрема, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфому с нерассеченными ядрами, лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), лимфому из клеток маргинальной зоны, лимфому маргинальной зоны селезенки, узелковую моноцитоподобную В-клеточную лимфому, иммунобластную лимфому, крупноклеточную лимфому, диффузную смешанно-клеточную лимфому, легочную В-клеточную лимфангиому, мелколимфоцитарную лимфому, первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, лимфоплазматическую лимфому (LPL) или лимфому из клеток мантийной зоны (MCL).

196. Способ или применение по п. 195, при этом рак представляет собой лейкоз, и лейкоз представляет собой хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), плазмоклеточный

лейкоз или острый лимфоцитарный лейкоз (ALL).

197. Способ или применение по п. 194, при этом рак представляет собой злокачественное новообразование из плазматических клеток, и злокачественное новообразование из плазматических клеток представляет собой множественную миелому (ММ) или плазмацитому.

198. Способ или применение по любому из пунктов 191-194 и 197, при этом рак представляет собой множественную миелому (ММ).

199. Способ или применение по любому из пунктов 185 и 188-198, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит от или от примерно  $1 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $2 \times 10^9$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

200. Способ или применение по любому из пунктов 185 и 188-199, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит от или от примерно  $2,5 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $1,2 \times 10^9$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, от или от примерно  $5,0 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, или от или от примерно  $1,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток до или до примерно  $3,0 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

201. Способ или применение по любому из пунктов 185 и 188-200, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $2,5 \times 10^7$ , содержит или содержит примерно  $5,0 \times 10^7$ , содержит или содержит примерно  $1,5 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $3,0 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $4,5 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $8,0 \times 10^8$ , или содержит или содержит примерно  $1,2 \times 10^9$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

202. Способ или применение по любому из пунктов 185 и 188-201, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $5,0 \times 10^7$ , содержит или содержит примерно  $1,5 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $3,0 \times 10^8$ , или содержит или содержит примерно  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

203. Способ или применение по любому из пунктов 185 и 188-202, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит сочетание  $CD4^+$  Т-клеток и  $CD8^+$  Т-клеток, с соотношением  $CD4^+$  CAR-экспрессирующих Т-клеток и  $CD8^+$  CAR-экспрессирующих Т-клеток, и/или  $CD4^+$  Т-клеток и  $CD8^+$  Т-клеток, которое составляет или составляет примерно 1:1, или от примерно 1:3 до примерно 3:1.

204. Способ или применение по любому из пунктов 185 и 188-203, при этом менее чем примерно 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% CAR-экспрессирующих Т-клеток в дозе генетически модифицированных Т-клеток экспрессируют маркер апоптоза, необязательно, аннексин V или активную каспазу 3.

205. Способ или применение по любому из пунктов 185 и 188-204, при этом менее чем 5%, 4%, 3%, 2% или 1% CAR-экспрессирующих Т-клеток в дозе генетически модифицированных Т-клеток экспрессируют аннексин V или активную каспазу 3.

206. Способ или применение по любому из пунктов 184, 185 и 188-205, при этом перед введением субъект получил лимфодеплеционную терапию, включающую введение

флударабина в дозе или дозе примерно 20-40 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе или дозе примерно 30 мг/м<sup>2</sup>, ежедневно в течение 2-4 дней, и/или циклофосфида в дозе или дозе примерно 200-400 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, необязательно, в дозе или дозе примерно 300 мг/м<sup>2</sup>, ежедневно в течение 2-4 дней.

207. Способ или применение по любому из пунктов 184, 185 и 188-206, при этом субъект получил лимфодеплеционную терапию, включающую введение флударабина в дозе или дозе примерно 30 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, ежедневно, и циклофосфида в дозе или дозе примерно 300 мг/м<sup>2</sup> площади поверхности тела субъекта, ежедневно, в течение 3 дней.

208. Способ или применение по любому из пунктов 184, 185 и 188-207, при этом в процессе, или до, введения дозы клеток субъект получил три или более предшествующих видов терапии от заболевания или нарушения, необязательно, четыре или более предшествующих видов терапии, необязательно, выбранных из:

- аутологичного трансплантата стволовых клеток (ASCT);
- иммуномодулирующего средства;
- ингибитора протеасом; и
- анти-CD38 антитела.

209. Способ или применение по любому из пунктов 208, при этом иммуномодулирующее средство выбирают из талидомида, леналидомида и помалидомида.

210. Способ или применение по п. 208 или п. 209, при этом ингибитор протеасом выбирают из бортезомиба, карфилзомиба и иксазомиба.

211. Способ или применение по любому из пунктов 208-210, при этом анти-CD38 антитело представляет собой или содержит даратумумаб.

212. Способ или применение по любому из пунктов 184, 185 и 188-211, при этом в момент введения дозы клеток и/или в момент лимфодеплеционной химиотерапии или лейкафереза, субъект не имел активный, или в анамнезе, плазмоклеточный лейкоз (PCL).

213. Способ или применение по любому из пунктов 184, 185 и 188-212, при этом в момент введения дозы клеток у субъекта развился вторичный плазмоклеточный лейкоз (PCL).

214. Способ или применение по любому из пунктов 184, 185 и 188-213, при этом в момент введения субъект:

- перенес рецидив или был невосприимчивым после по меньшей мере 3 или по меньшей мере 4 предшествующих видов терапии против множественной миеломы;
- является взрослым субъектом, или имеет возраст 25 или 35 лет, или более;
- после диагностирования у него множественной миеломы прошло примерно 4 года, или от 2 до 15, или от 2 до 12 лет;
- получал примерно 10, или от 3 до 15, или от 4 до 15, предшествующих курсов лечения против множественной миеломы;
- был невосприимчивым, или не отвечал на бортезомиб, карфилзомиб, леналидомид, помалидомид и/или анти-CD38 моноклональное антитело;

ранее получал аутологичный трансплантат стволовых клеток или ранее не получал аутологичный трансплантат стволовых клеток; и/или

имеет цитогенетику высокого риска согласно IMWG.

215. Способ или применение по любому из пунктов 184-214, при этом способ может вызывать определенный ответ, или результат, необязательно, в определенный момент времени после начала введения, у по меньшей мере одного из, или у по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, субъектов в группе субъектов, имеющих заболевание или нарушение, необязательно, при этом субъекты в группе имеют по меньшей мере такое же количество предшествующих видов терапии, прогноз или прогностический фактор, подтип, вторичные проявления или другую конкретную характеристику, или характеристики, пациента, что и субъект, получавший лечение способом, при этом:

ответ выбирают из группы, состоящей из объективного ответа (ОО), полного ответа (ПО), строгого полного ответа (сПО), очень хорошего частичного ответа (ОХЧО), частичного ответа (ЧО) и минимального ответа (МО);

ответ или результат представляет собой или включает ОО;

ответ или результат представляет собой или включает ПО.

216. Способ или применение по п. 215, при этом ответ или результат представляет собой ОО, и достигается у по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70% или по меньшей мере 80% субъектов в группе.

217. Способ или применение по п. 215, при этом ответ или результат представляет собой ПО или сПО, и достигается у по меньшей мере 20%, 30% или 40% субъектов в группе.

218. Способ или применение по любому из пунктов 215-217, при этом доза клеток составляет менее чем  $1,5 \times 10^8$  клеток или менее чем  $1,5 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток, или менее чем  $3 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток, или менее чем  $4,5 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток.

219. Способ или применение по любому из пунктов 215-217, при этом доза клеток составляет или составляет менее чем  $1,5 \times 10^8$  клеток или менее чем  $1,5 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток.

220. Способ или применение по любому из пунктов 215-219, при этом доза клеток составляет или составляет примерно  $5 \times 10^7$  клеток или CAR+ Т-клеток.

221. Способ или применение по любому из пунктов 215-219, при этом доза клеток составляет или составляет примерно  $1,5 \times 10^8$  клеток или CAR+ Т-клеток.

222. Способ или применение по любому из пунктов 215-219, при этом доза клеток составляет или составляет примерно  $3 \times 10^8$  клеток или CAR+ Т-клеток.

223. Способ или применение по любому из пунктов 215-219, при этом доза клеток составляет или составляет примерно  $4,5 \times 10^8$  клеток или CAR+ Т-клеток.

224. Способ или применение по любому из пунктов 215-223, при этом ответ или результат включает или дополнительно включает отсутствие нейротоксичности степени 3 или выше, или степени 4 или выше, отсутствие синдрома высвобождения цитокинов степени 3 или выше, или степени 4 или выше.

225. Способ или применение по любому из пунктов 215-224, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $5,0 \times 10^7$ , содержит или содержит примерно  $1,5 \times 10^8$ , содержит или содержит примерно  $3,0 \times 10^8$ , или содержит или содержит примерно  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

226. Способ или применение по любому из пунктов 215-225, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $5,0 \times 10^7$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

227. Способ или применение по любому из пунктов 215-225, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $1,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

228. Способ или применение по любому из пунктов 215-225, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $3 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

229. Способ или применение по любому из пунктов 215-225, при этом доза генетически модифицированных Т-клеток содержит или содержит примерно  $4,5 \times 10^8$  CAR-экспрессирующих Т-клеток.

230. Клетка по любому из пунктов 168-179, или композиция по любому из пунктов 180-183, которая после введения в дозе CAR+ клеток способна приводить к достижению, необязательно, в определенный момент времени после введения, определенного ответа или результата у по меньшей мере одного из, или у по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%, субъектов в группе субъектов или поддающихся оценке субъектов, при этом группа субъектов представляет собой группу субъектов, имеющих множественную миелому.

231. Клетка или композиция по п. 230, при этом достижение ответа или результата происходит в определенное время после начала введения, например, через 1, 2, 3, 6, 9 или 12 месяцев после указанного начала введения.

232. Клетка или композиция по п. 231, при этом достижение ответа или результата происходит в определенное время после начала введения, например, через 1 или 2, или 3 месяца после указанного начала введения.

233. Клетка или композиция по п. 230, при этом:

субъекты в группе представляют собой субъектов, имеющих рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому;

субъекты в группе представляют собой субъектов, имеющих рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому, которые получали, и перенесли рецидив или стали невосприимчивыми после получения, по меньшей мере 3 предшествующих вида терапии против множественной миеломы, при этом указанные предшествующие виды терапии, необязательно, включают использование иммуномодулирующего средства; ингибитора протеасом; и/или анти-CD38 антитела;

субъекты в группе представляют собой субъектов, имеющих рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому, которые получали, и перенесли рецидив или стали невосприимчивыми после получения, по меньшей мере 3 предшествующих вида терапии против множественной миеломы, при этом указанные предшествующие виды терапии, необязательно, включают использование иммуномодулирующего средства; ингибитора протеасом; и/или анти-CD38 антитела и/или аутологичного трансплантата стволовых клеток; и/или

субъекты в группе представляют собой субъектов, которые не имеют активный плазмоклеточный лейкоз (PCL) или не имеют в анамнезе PCL в момент указанного введения;

субъекты в группе представляют собой субъектов, у которых развился вторичный плазмоклеточный лейкоз (PCL) до введения клеток;

субъекты в группе представляют собой или включают субъектов, имеющих рецидивирующую или рефрактерную множественную миелому, которые получали, и перенесли рецидив или стали невосприимчивыми после получения, по меньшей мере 4, или в среднем, по меньшей мере 10 предшествующих видов терапии против множественной миеломы;

субъекты в группе состоят из, или включают, взрослых субъектов;

субъекты в группе имеют среднее время после постановки диагноза, составляющее 4 года, и/или диапазон времени после постановки диагноза, составляющий от 2 до 12 лет;

субъекты в группе получали в среднем 10 предшествующих видов терапии, или от 3 до 15, или от 4 до 15 предшествующих видов терапии против множественной миеломы;

субъекты в группе включают субъектов, невосприимчивых к бортезомибу, карфилзомибу, леналидомиду, помалидомиду и анти-CD38 моноклональному антителу;

субъекты в группе включают субъектов, получавших ранее аутологичный трансплантат стволовых клеток; и/или

субъекты в группе включают субъектов, имеющих цитогенетику высокого риска согласно IMWG.

234. Клетка или композиция по п. 233, при этом иммуномодулирующее средство выбирают из талидомида, леналидомида и помалидомида; ингибитор протеасом выбирают из бортезомиба, карфилзомиба и иксазомиба и/или анти-CD38 антитело представляет собой или содержит даратумумаб.

235. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-234, при этом

ответ или результат выбирают из группы, состоящей из объективного ответа (ОО), полного ответа (ПО), строгого полного ответа (сПО), очень хорошего частичного ответа (ОХЧО), частичного ответа (ЧО) и минимального ответа (МО), необязательно, на основании универсальных критериев ответа, разработанных Международной рабочей группой по изучению миеломы (IMWG);

ответ или результат представляет собой или включает ОО, необязательно, на основании универсальных критериев ответа, разработанных Международной рабочей

группой по изучению миеломы (IMWG); или

ответ или результат представляет собой или включает ПО, необязательно, на основании универсальных критериев ответа, разработанных Международной рабочей группой по изучению миеломы (IMWG).

236. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-235, при этом ответ или результат представляет собой или включает ОО.

237. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-236, при этом доза способна приводить к достижению ответа или результата у по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70% или по меньшей мере 80% субъектов в группе.

238. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-235, при этом ответ или результат представляет собой или включает ПО или сПО.

239. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-238, при этом доза способна приводить к достижению ответа или результата у по меньшей мере 20%, 30% или 40% субъектов в группе.

240. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-239, при этом доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет менее  $1,5 \times 10^8$  клеток;

доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет менее  $1,5 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток.

241. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-240, при этом доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет менее  $1,5 \times 10^8$  клеток;

доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет менее  $1,5 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток

доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет менее  $3 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток; или

доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет менее  $4,5 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток.

242. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-241, при этом доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет менее  $1 \times 10^8$  клеток;

доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет менее  $1 \times 10^8$  CAR+ Т-клеток.

243. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-242, при этом доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет или составляет примерно  $5 \times 10^7$  клеток, или составляет или составляет примерно  $5 \times 10^7$  CAR+ Т-клеток.

244. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-243, при этом доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет или

составляет примерно  $1,5 \times 10^8$  клеток или CAR+ T-клеток.

245. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-244, при этом доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет или составляет примерно  $3 \times 10^8$  клеток или CAR+ T-клеток.

246. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-245, при этом доза, способная приводить к достижению указанного ответа или результата, составляет или составляет примерно  $4,5 \times 10^8$  клеток или CAR+ T-клеток.

247. Клетка или композиция по любому из пунктов 230-246, при этом ответ или результат включает или дополнительно включает отсутствие нейротоксичности степени 3 или выше, или степени 4 или выше, отсутствие синдрома высвобождения цитокинов степени 3 или выше, или степени 4 или выше.

248. Способ определения гетерогенности транскрибированной нуклеиновой кислоты трансгена, включающий:

а) амплификацию транскрибированной нуклеиновой кислоты с использованием по меньшей мере одной пары 5' и 3'-праймеров, при этом по меньшей мере одна пара включает 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5'-нетранслируемой области (5' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3'-нетранслируемой области (3' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, с получением одного или более амплифицированных продуктов; и

б) обнаружение амплифицированных продуктов, при этом присутствие двух или более амплифицированных продуктов из по меньшей мере одной пары 5' и 3'-праймеров указывает на гетерогенность амплифицированных продуктов.

249. Способ по п. 248, при этом обнаруженные отличия на этапе б) представляют собой разные длины амплифицированных транскриптов.

250. Способ по п. 248, при этом отличия на этапе б) представляют собой отличия в хроматографических профилях амплифицированных транскриптов.

251. Способ по любому из пунктов 248-250, при этом отличия в амплифицированных продуктах определяют методом электрофореза в агарозном геле, капиллярного электрофореза в чип-формате, аналитического ультрацентрифугирования, проточного фракционирования в силовом поле или хроматографии.

252. Способ по любому из пунктов 248-251, при этом 5'-праймер является специфическим для последовательности, транскрибированной с области промотора транскрибированной нуклеиновой кислоты.

253. Способ по любому из пунктов 248-252, при этом транскрибированную нуклеиновую кислоту амплифицируют с использованием 3'-праймера, специфического для последовательности в кодирующей аминокислотную последовательность полинуклеотиде и/или 3'-нетранслируемой области транскрибированной пре-мРНК.

254. Способ по любому из пунктов 248-253, при этом 3'-праймер является специфическим для последовательности полиаденилирования или области энхансера 3'-

нетранслируемой области транскрибированной пре-мРНК.

255. Способ по любому из пунктов 248-254, при этом этап а) осуществляют путем одной реакции амплификации с использованием одной пары 5' и 3'-праймеров, включающей 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5'-нетранслируемой области (5' UTR) транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3'-нетранслируемой области (3' UTR).

256. Способ по любому из пунктов 248-255, при этом этап а) осуществляют путем параллельных или последовательных реакций амплификации с использованием первой пары 5' и 3'-праймеров, второй пары 5' и 3'-праймеров и, необязательно, дополнительных пар 5' и 3'-праймеров, при этом:

первая пара 5' и 3'-праймеров включает 5'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 5' UTR транскрибированной нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, комплементарный последовательности нуклеиновой кислоты в 3' UTR транскрибированной нуклеиновой кислоты;

вторая пара 5' и 3'-праймеров включает 5'-праймер, последовательность которого комплементарна части транслируемой последовательности транскрипта нуклеиновой кислоты, и 3'-праймер, последовательность которого комплементарна нуклеотидной последовательности в 3' UTR транскрипта; и

необязательно, каждая из дополнительных пар 5' и 3'-праймеров включает последовательности, комплементарные последовательностям в транслируемой области транскрипта.

257. Способ по п. 256, при этом в параллельных или последовательных реакциях амплификации амплифицируют перекрывающиеся части транскрипта.

258. Способ по любому из пунктов 248-257, при этом амплифицированные продукты имеют предсказанную длину примерно 1,5 кб, 2 кб, 2,5 кб, 3 кб, 3,5 кб, 4 кб, 4,5 кб, 5 кб, 5,5 кб, 6 кб, 7 кб или 8 кб.

259. Способ по любому из пунктов 248-258, при этом транскрибированную нуклеиновую кислоту, которая, как установлено, имеет гетерогенность, идентифицируют как трансген-кандидат для удаления одного или более сайтов сплайсинга.

260. Способ по п. 259, при этом транскрибированная нуклеиновая кислота трансгена-кандидата имеет гетерогенность по меньшей мере или по меньшей мере примерно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, или более, после экспрессии в клетке.

261. Способ уменьшения гетерогенности экспрессированного трансгенного транскрипта, включающий:

а) идентификацию трансгена-кандидата для удаления сайтов сплайсинга способом по п. 259 или п. 260;

б) идентификацию одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга; и

с) модификацию последовательности нуклеиновой кислоты внутри, или вблизи, одного или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга, идентифицированных на этапе б), с получением модифицированного полинуклеотида.

262. Способ по п. 261, дополнительно включающий: d) оценку трансгена в качестве кандидата для удаления сайтов сплайсинга, как на этапе а).

263. Способ по п. 262, дополнительно включающий е) повторение этапов б)-d) до уменьшения гетерогенности транскрипта на этапе d) в сравнении с гетерогенностью транскрипта, определенной на этапе а).

264. Способ по любому из пунктов 261-263, при этом один или более потенциальных сайтов донора сплайсинга и/или сайтов акцептора сплайсинга имеют показатель события сплайсинга примерно или по меньшей мере примерно 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95 или 1,0, и/или согласно предсказанию могут быть вовлечены в событие сплайсинга с вероятностью по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100%.

265. Способ по любому из пунктов 261-264, при этом сайты донора сплайсинга и сайты акцептора сплайсинга идентифицируют независимо.

266. Способ по любому из пунктов 261-265, при этом сайт(ы) акцептора сплайсинга и/или сайт(ы) донора сплайсинга является/являются каноническими, неканоническими и/или скрытыми сайтами акцептора сплайсинга и/или сайтами донора сплайсинга.

267. Способ по любому из пунктов 261-266, при этом трансген представляет собой химерный антигенный рецептор или фрагмент химерного антигенного рецептора.

268. Способ по п. 267, при этом полипептид CAR содержит антигенсвязывающий домен, содержащий фрагмент антитела, необязательно, одноцепочечный фрагмент антитела (scFv), содержащий переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), спейсер, трансмембранную область и внутриклеточную сигнальную область.

269. Способ по п. 267 или п. 268, при этом модифицированный полинуклеотид не модифицирован в кодирующей последовательности для антигенсвязывающего домена закодированного полипептида CAR.

270. Способ по любому из пунктов 261-269, при этом закодированная аминокислотная последовательность трансгена не изменена после модификации полинуклеотида.

271. Способ по любому из пунктов 261-270, при этом РНК, транскрибированная с модифицированного полинуклеотида, имеет гомогенность по меньшей мере или по меньшей мере примерно 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% после экспрессии не модифицированного полинуклеотида в клетке.

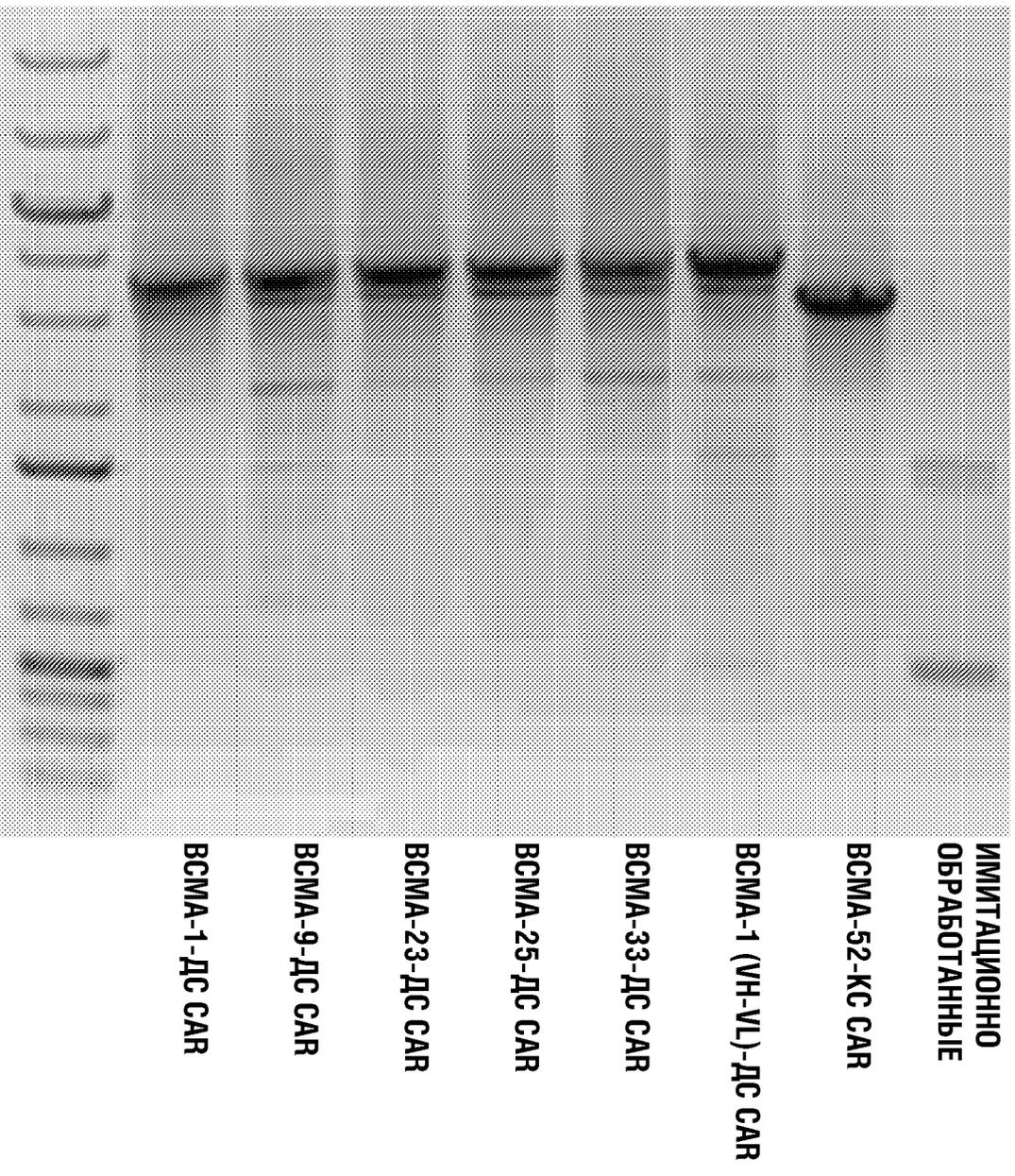
272. Способ по любому из пунктов 248-271, при этом клетка представляет собой человеческую клетку.

273. Способ по любому из пунктов 248-272, при этом клетка представляет собой Т-клетку.

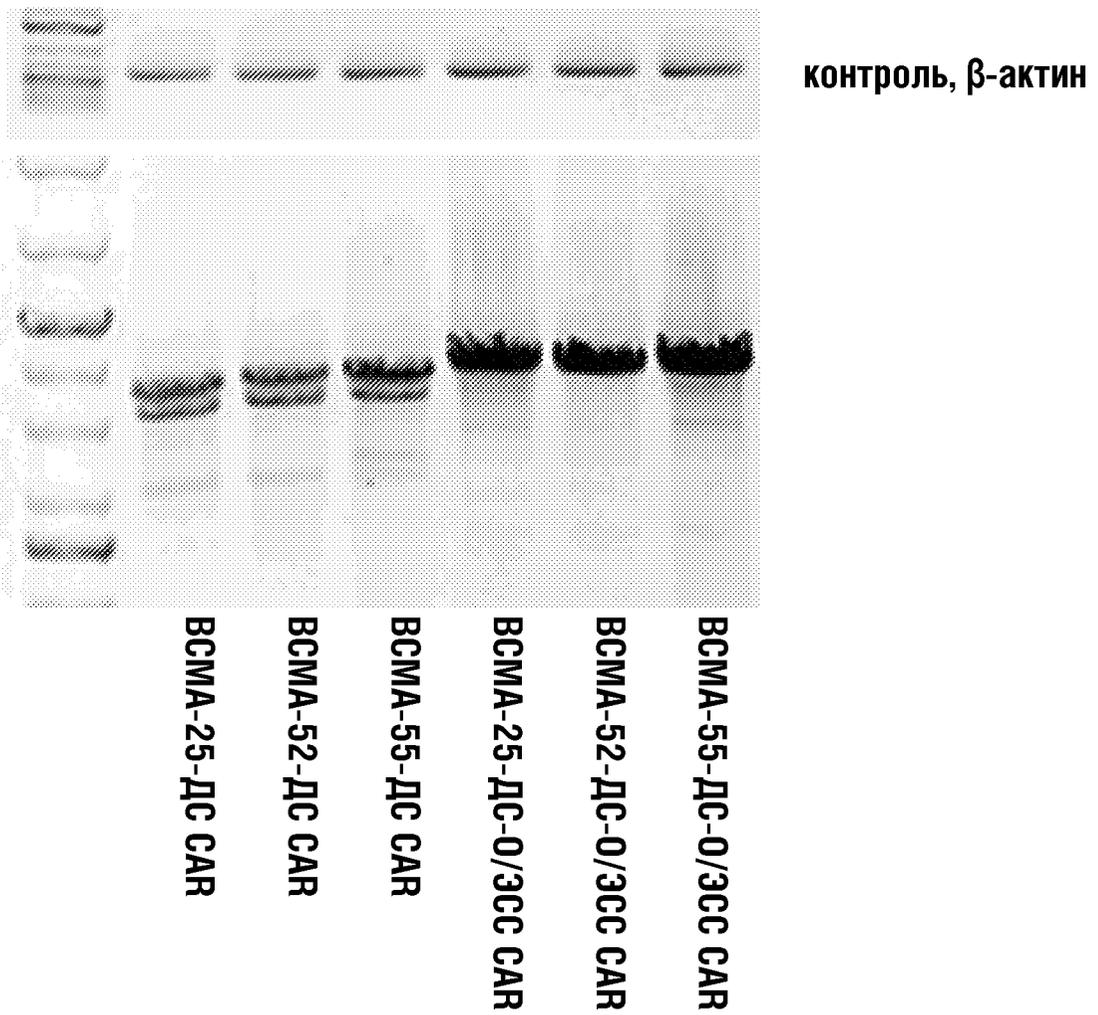
274. Способ по любому из пунктов 248-273, при этом способ является компьютерно-реализуемым способом, и при этом один или более этапов а)-с) выполняют на электронном устройстве, включающем один или более процессоров и блок памяти.

275. Компьютерная система, включающая процессор и блок памяти, при этом в памяти хранятся инструкции по выполнению с помощью процессора одного или более из этапов способов по любому из пунктов 248-274.

По доверенности



ФИГ.1А

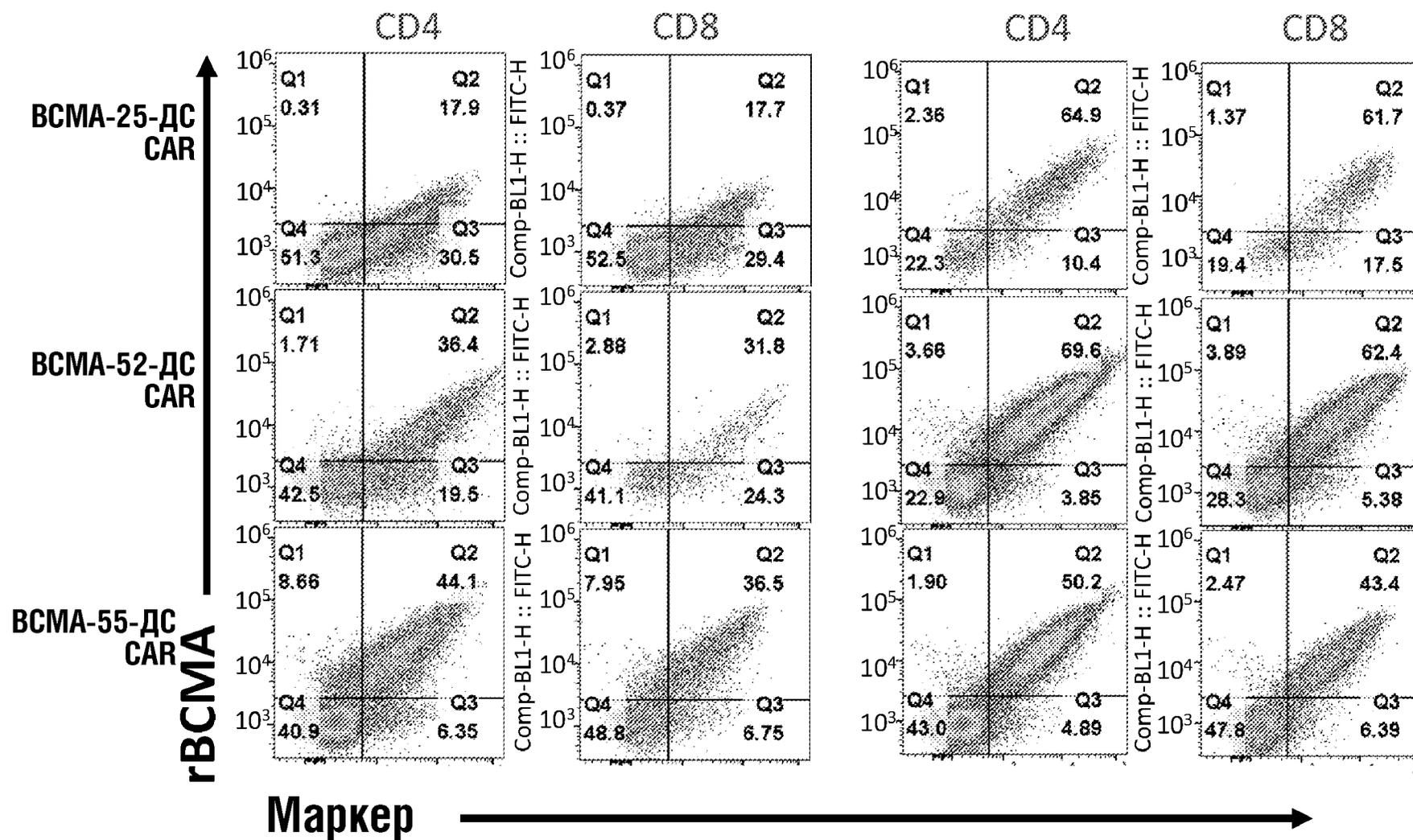


ФИГ.1В

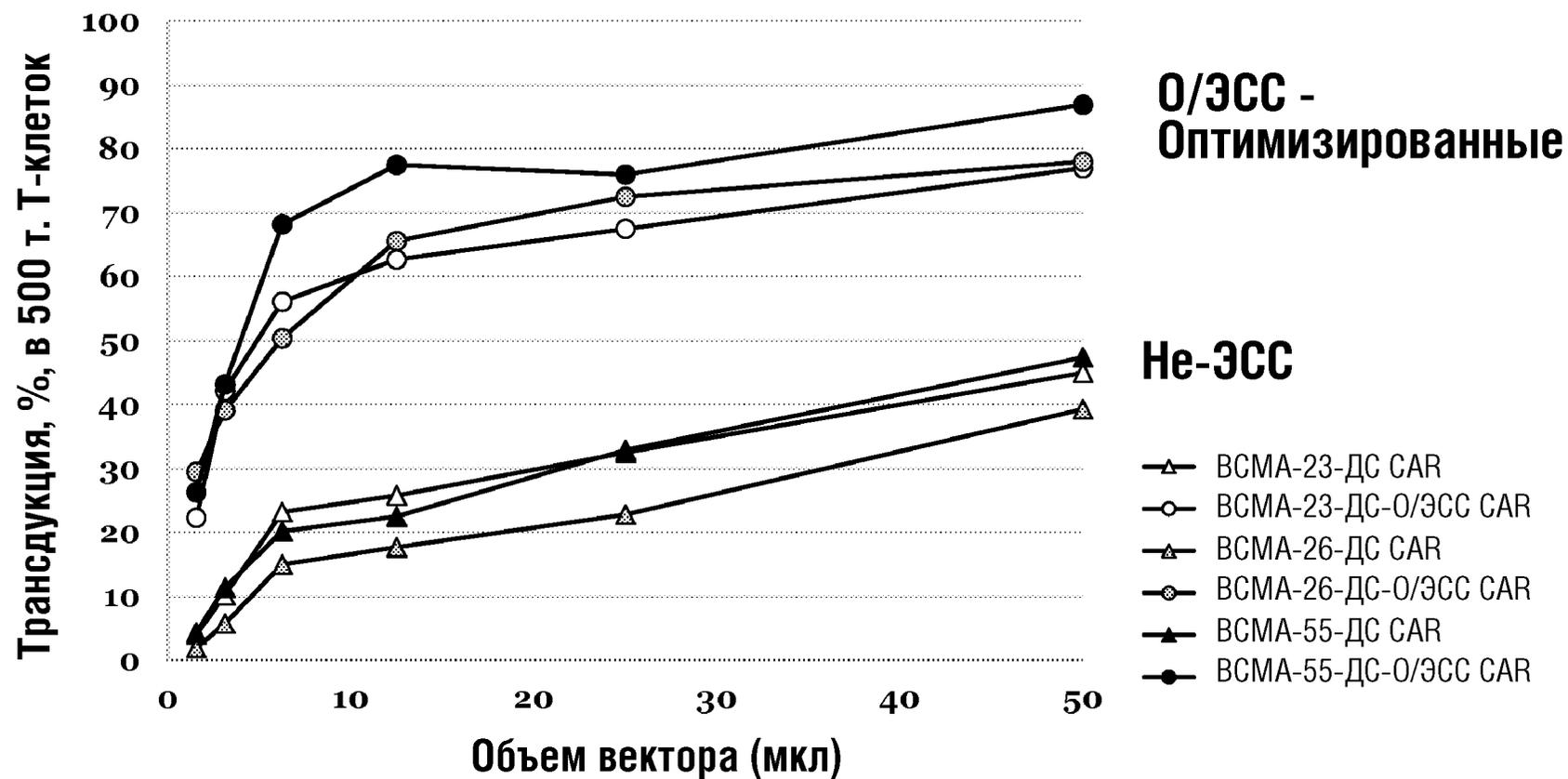
ФИГ.2

He-3CC

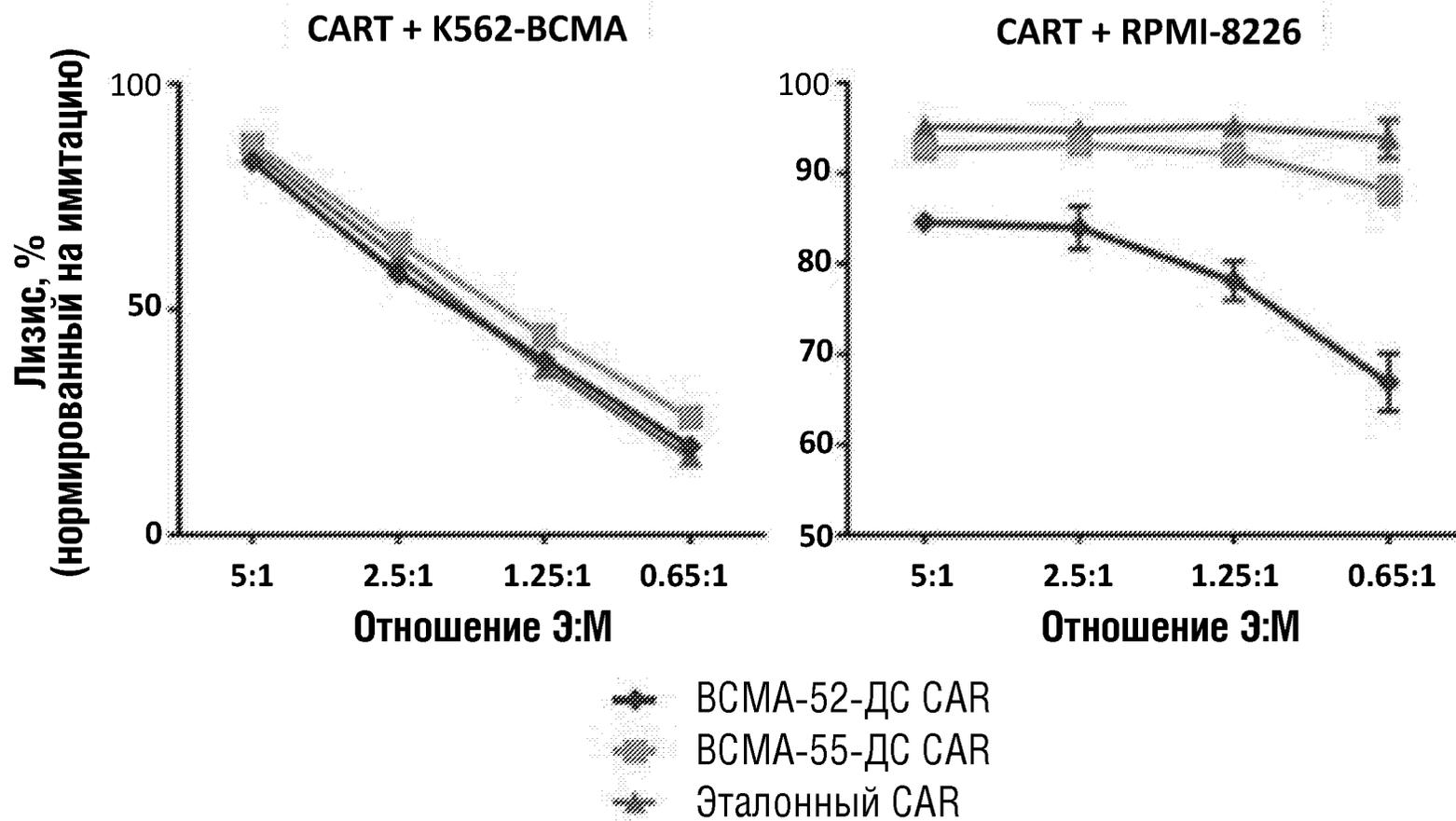
O/3CC



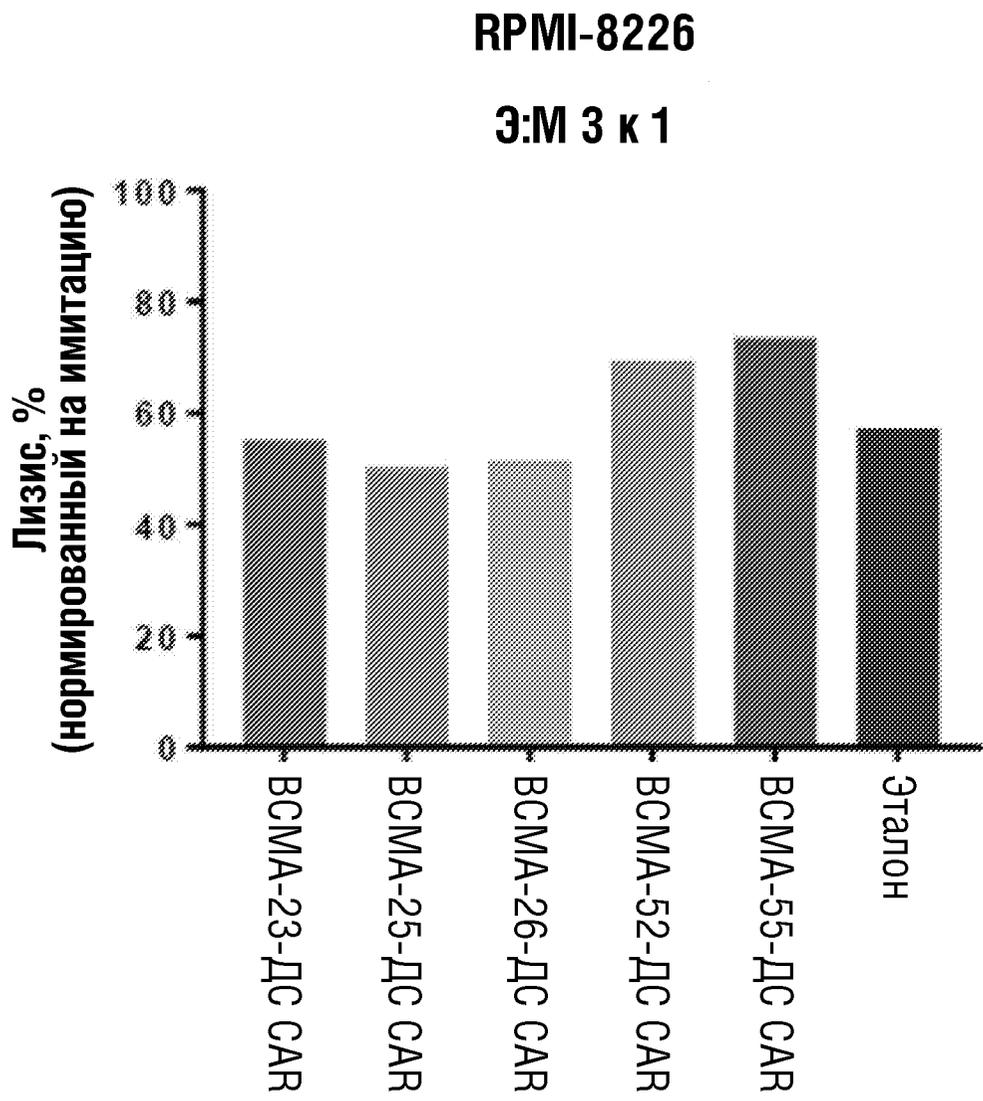
ФИГ.3



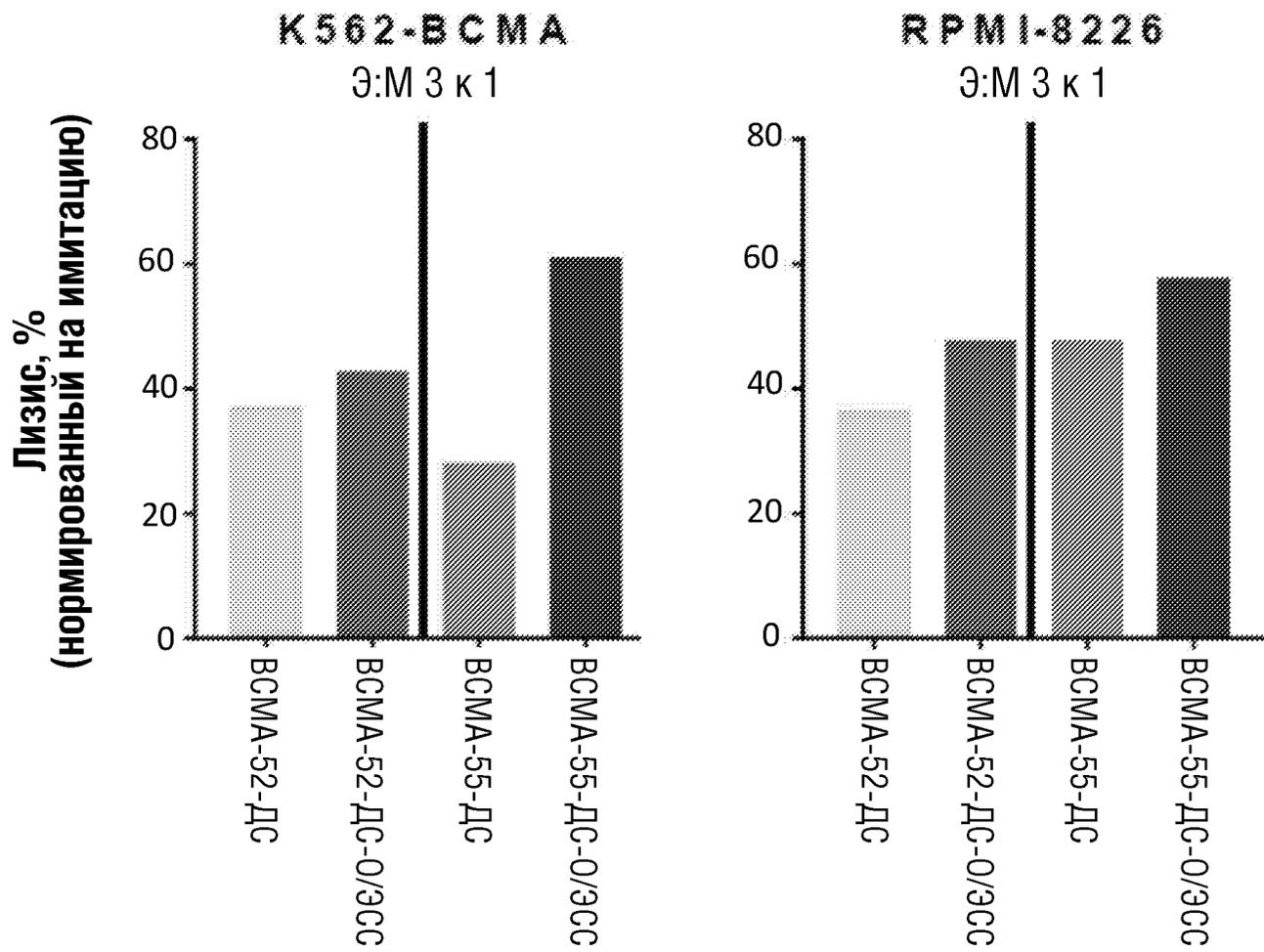
ФИГ.4А



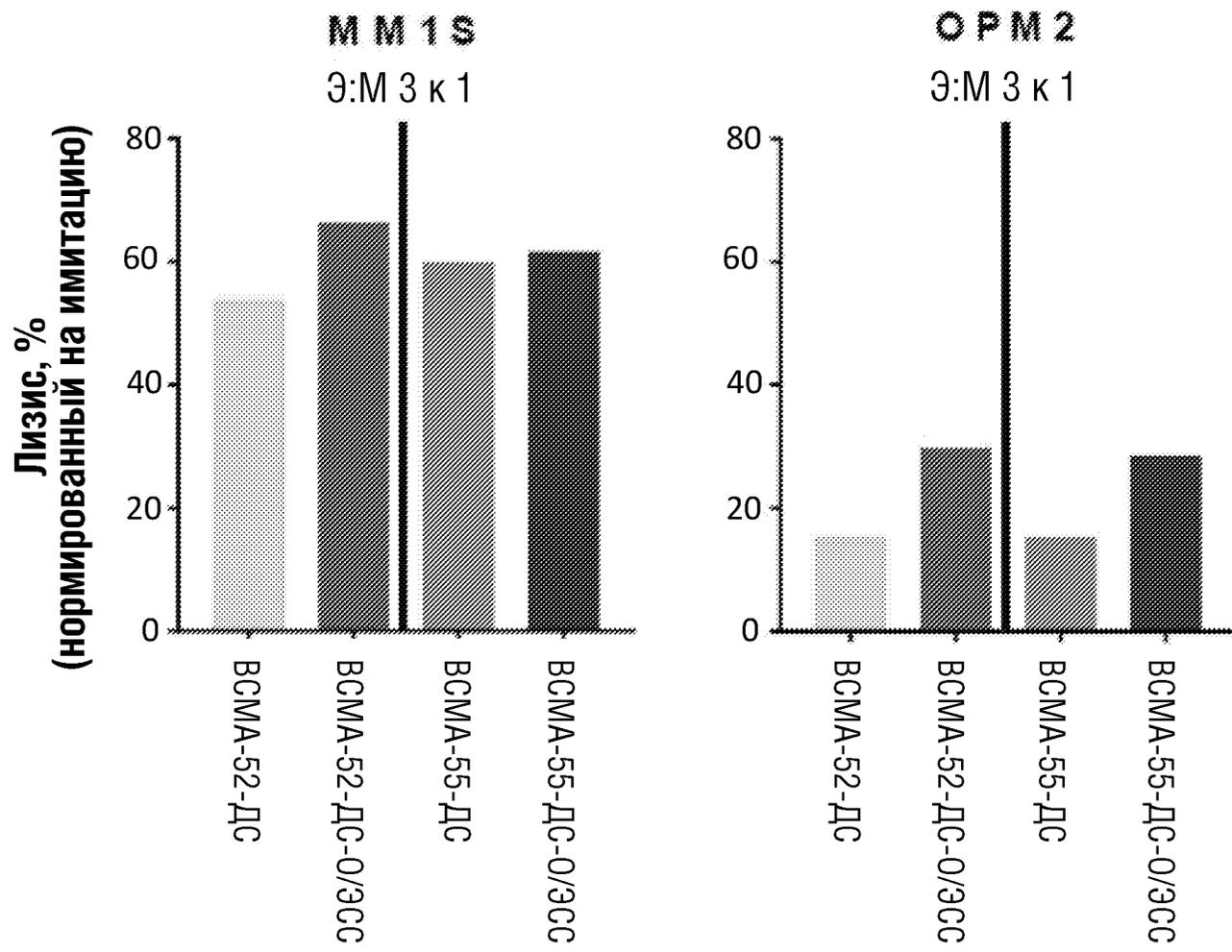
ФИГ.4В



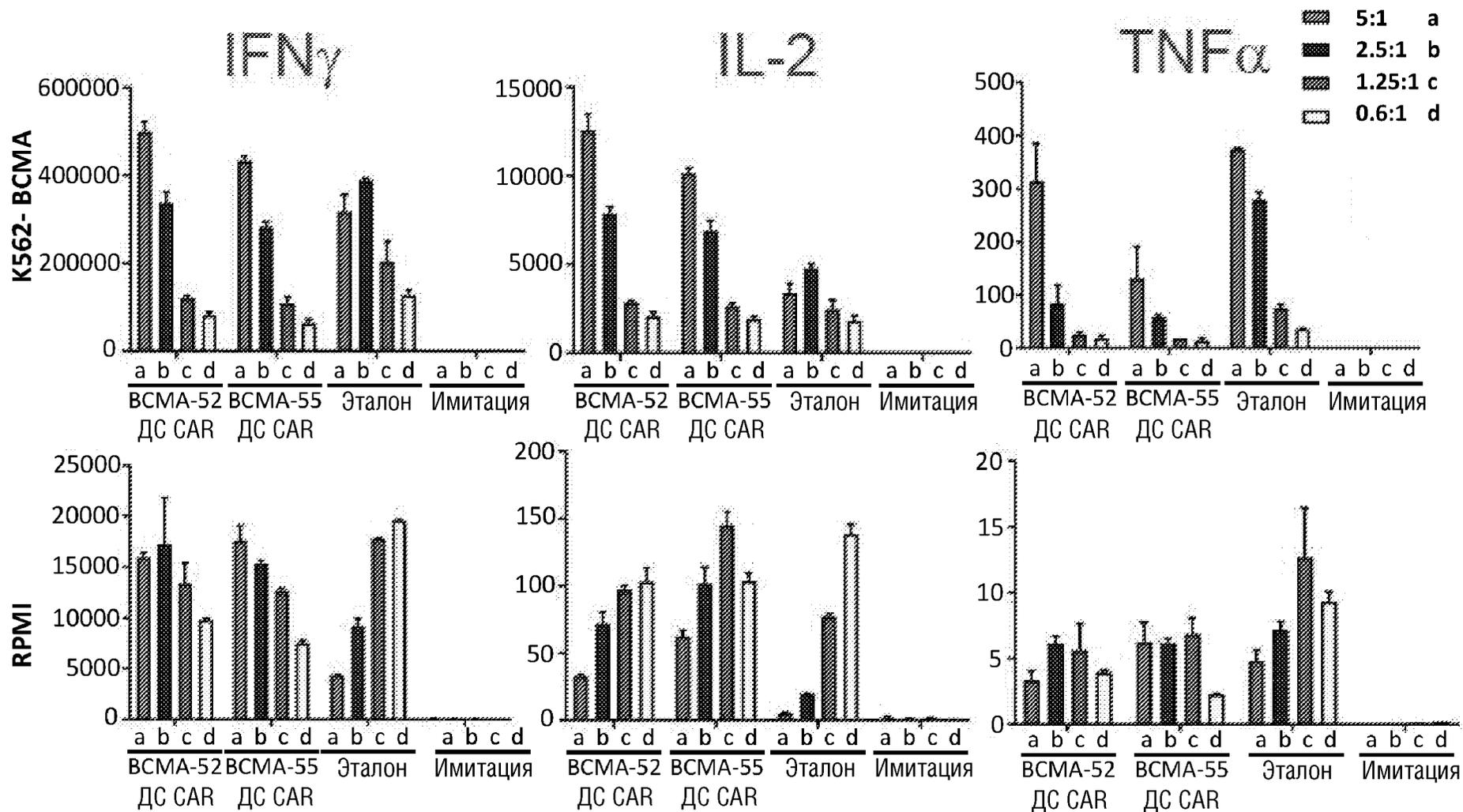
ФИГ.4С



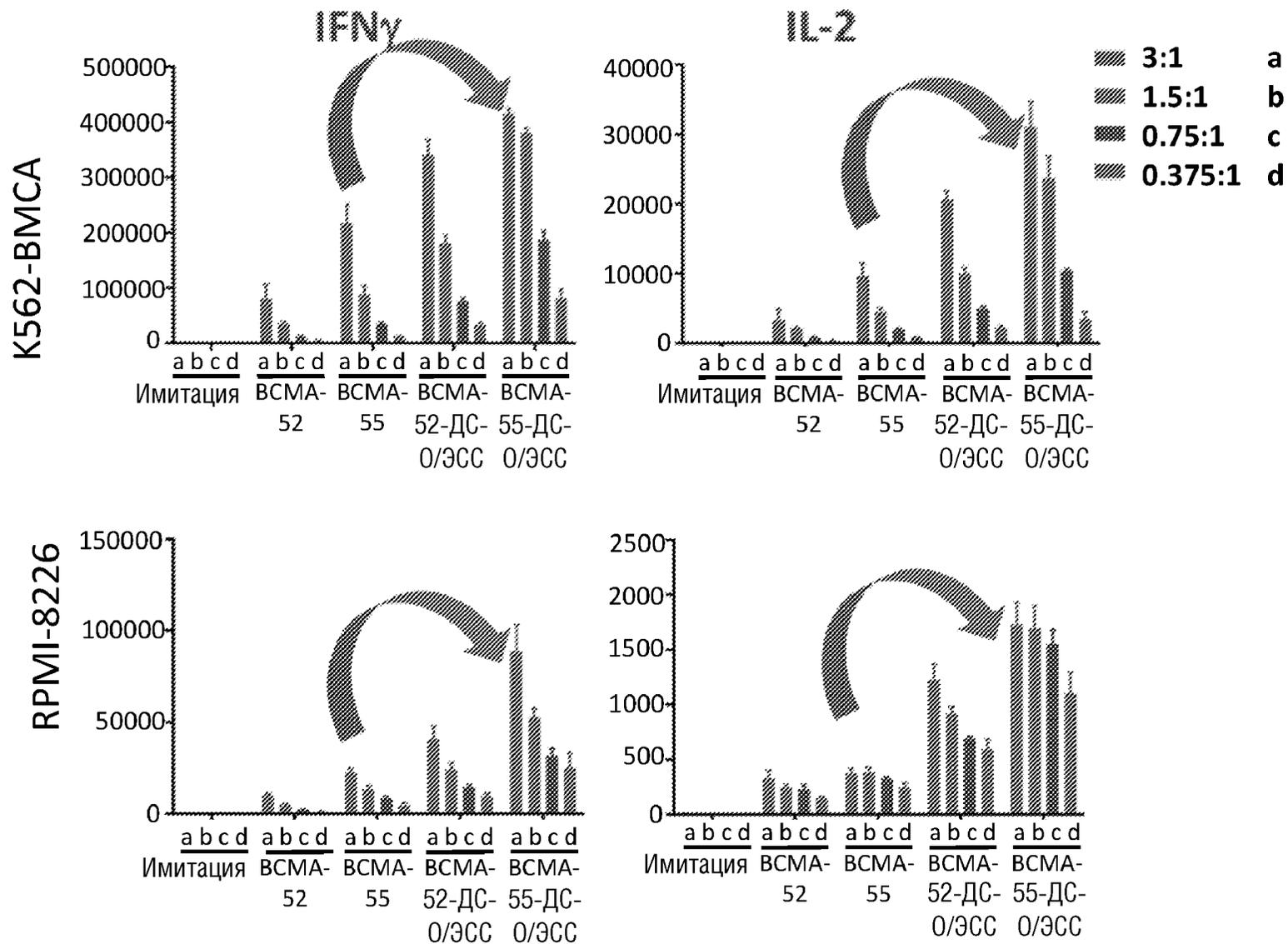
ФИГ.4D



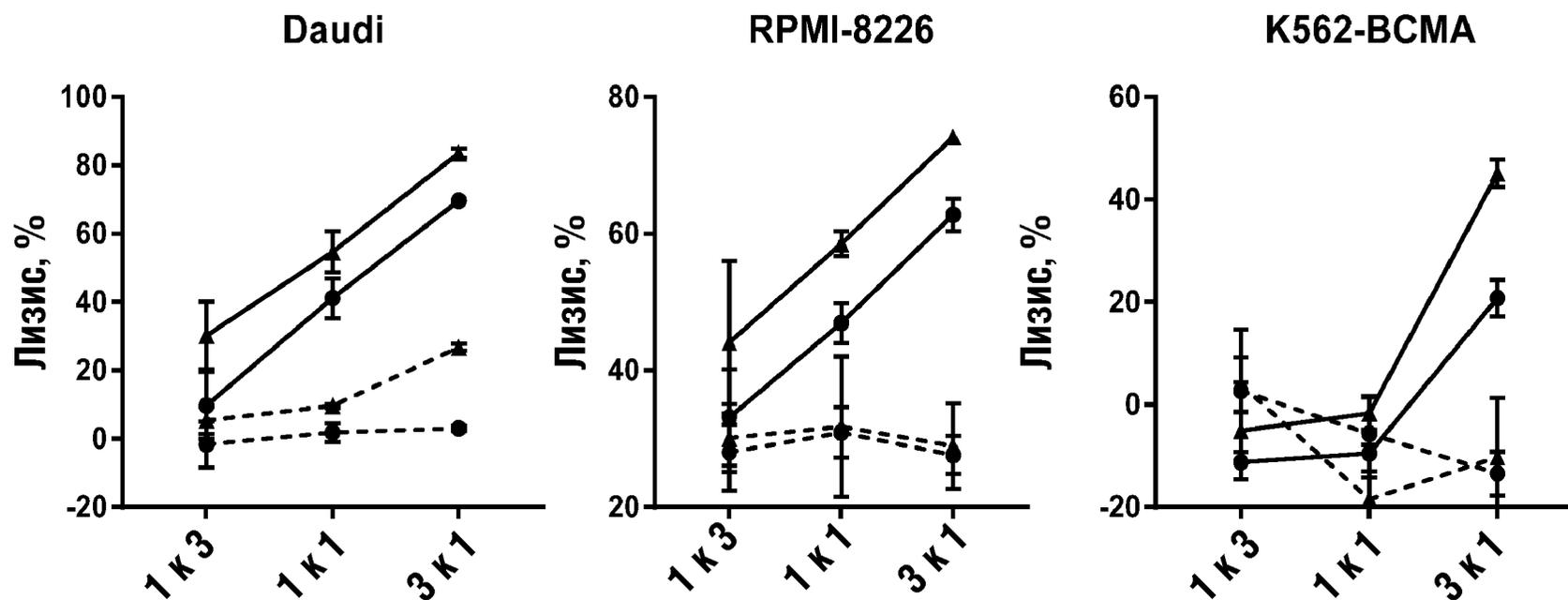
ФИГ.5А



ФИГ.5В



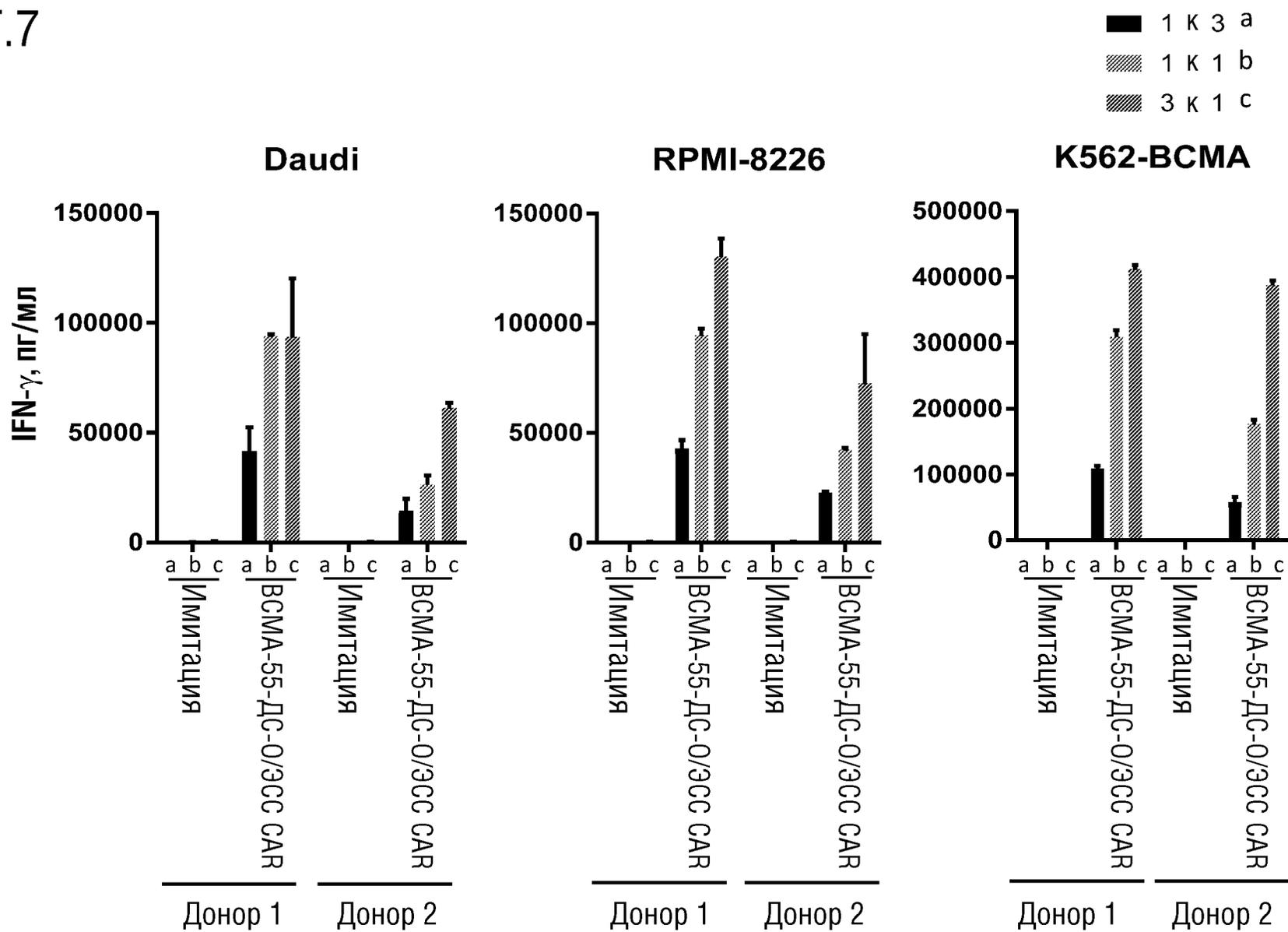
ФИГ.6



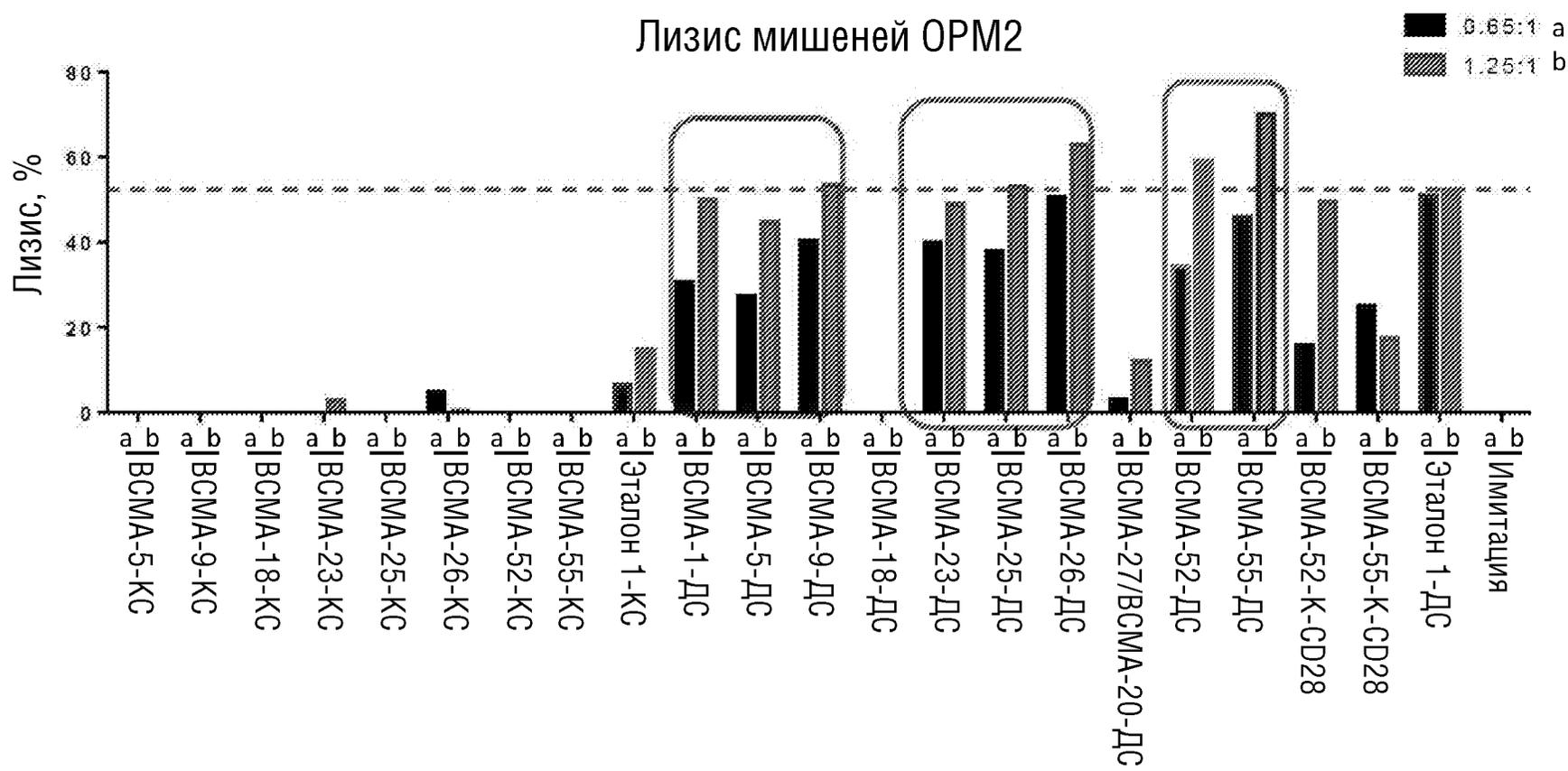
Эффектор к мишени

- BCMA-55-ДС-0/ЭСС, донор 1
- Имитация, донор 1
- ▲ BCMA-55-ДС-0/ЭСС, донор 2
- ▲ Имитация, донор 2

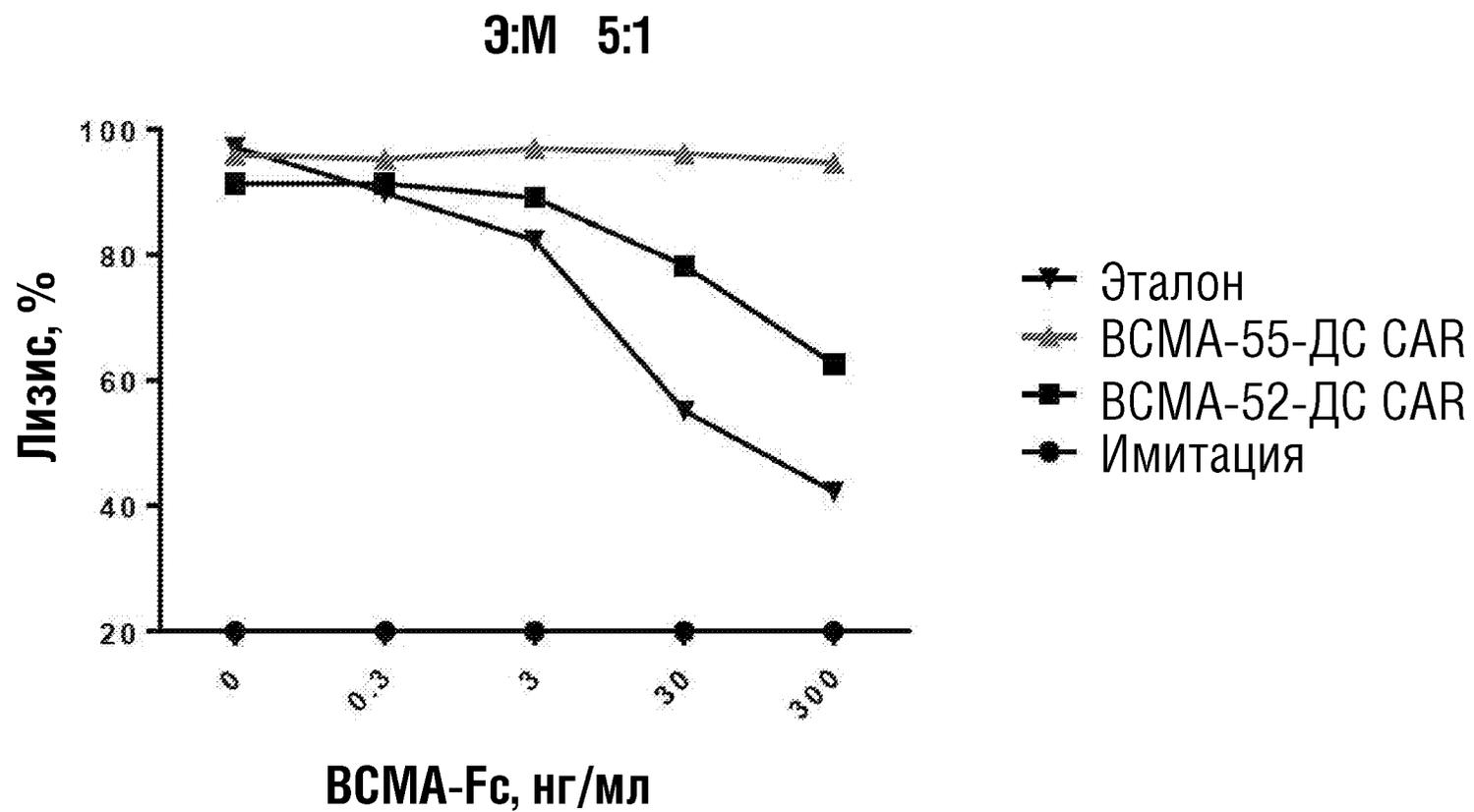
ФИГ.7



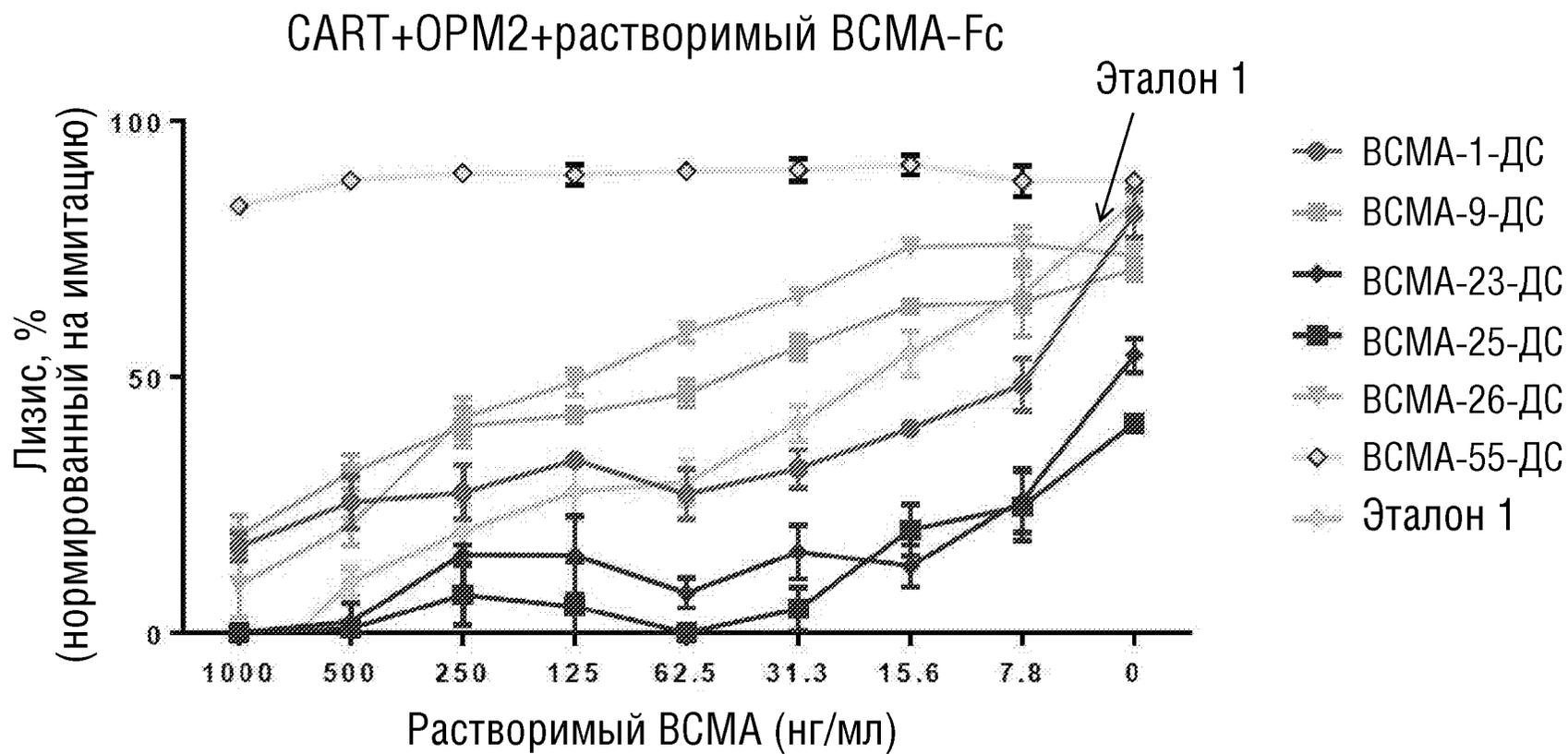
ФИГ.8



ФИГ.9А

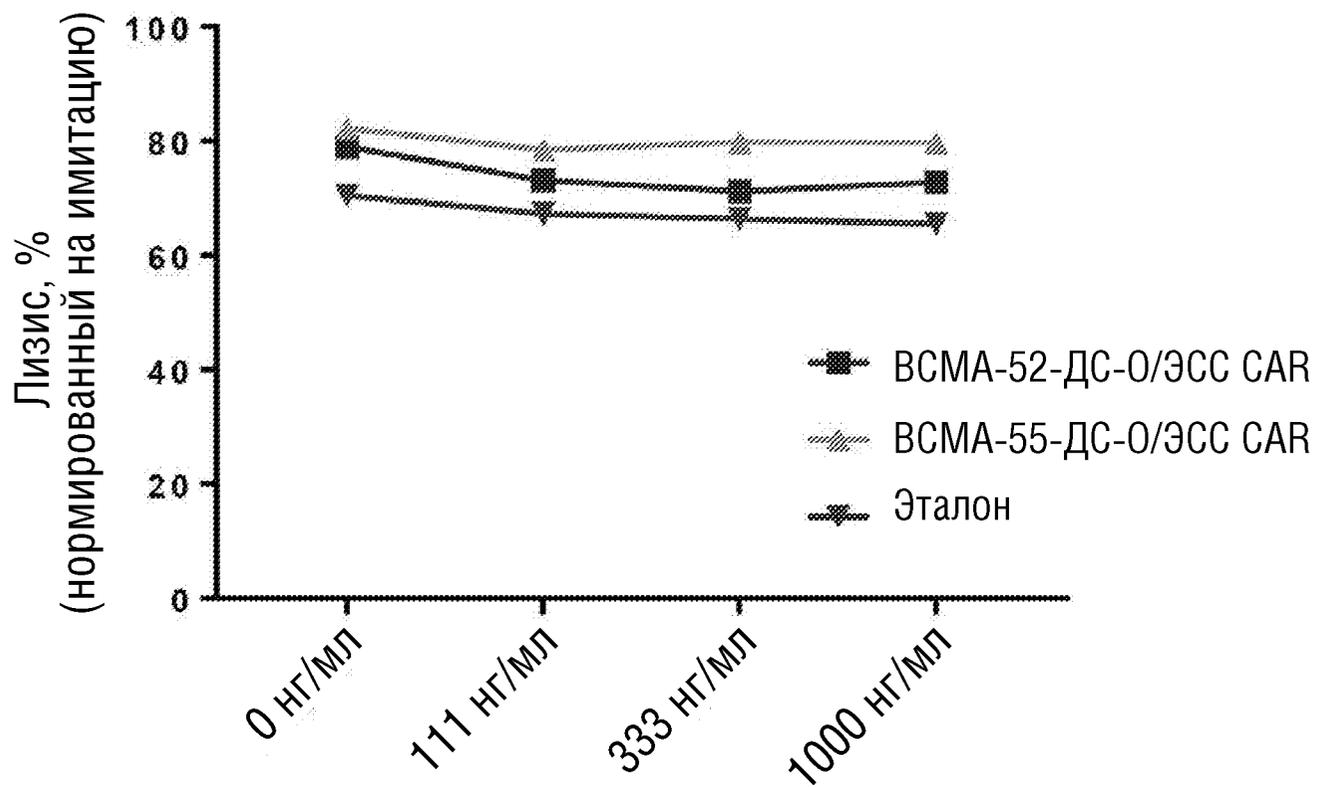


ФИГ.9В

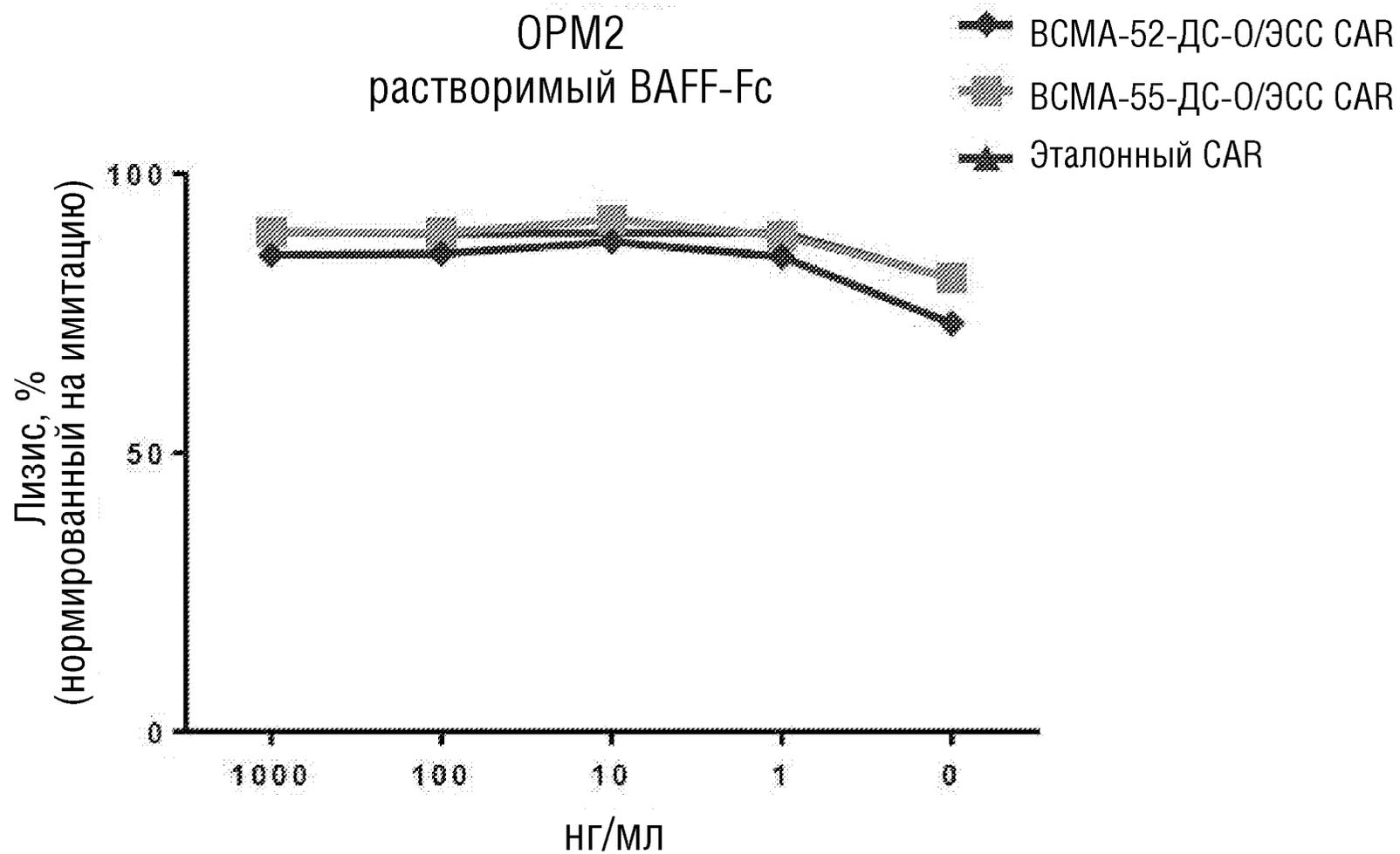


ФИГ.10А

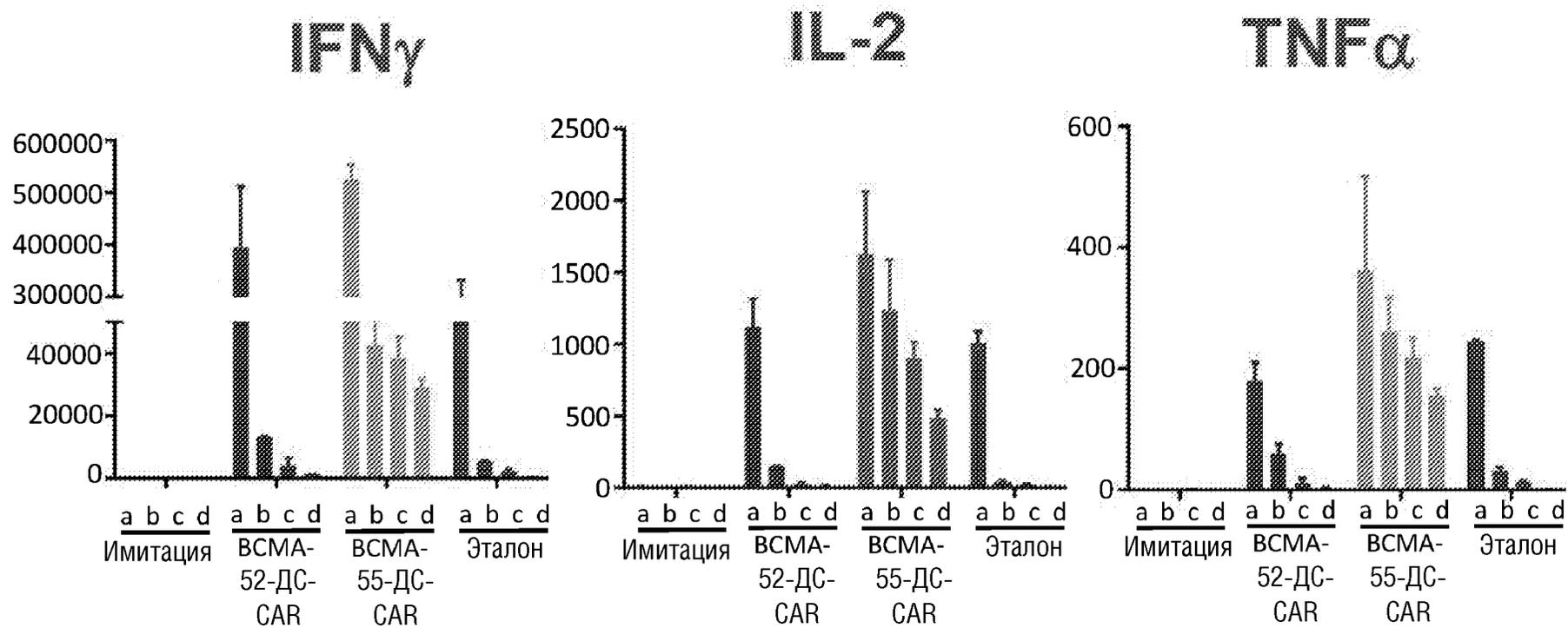
Супернатант Н929



ФИГ.10В

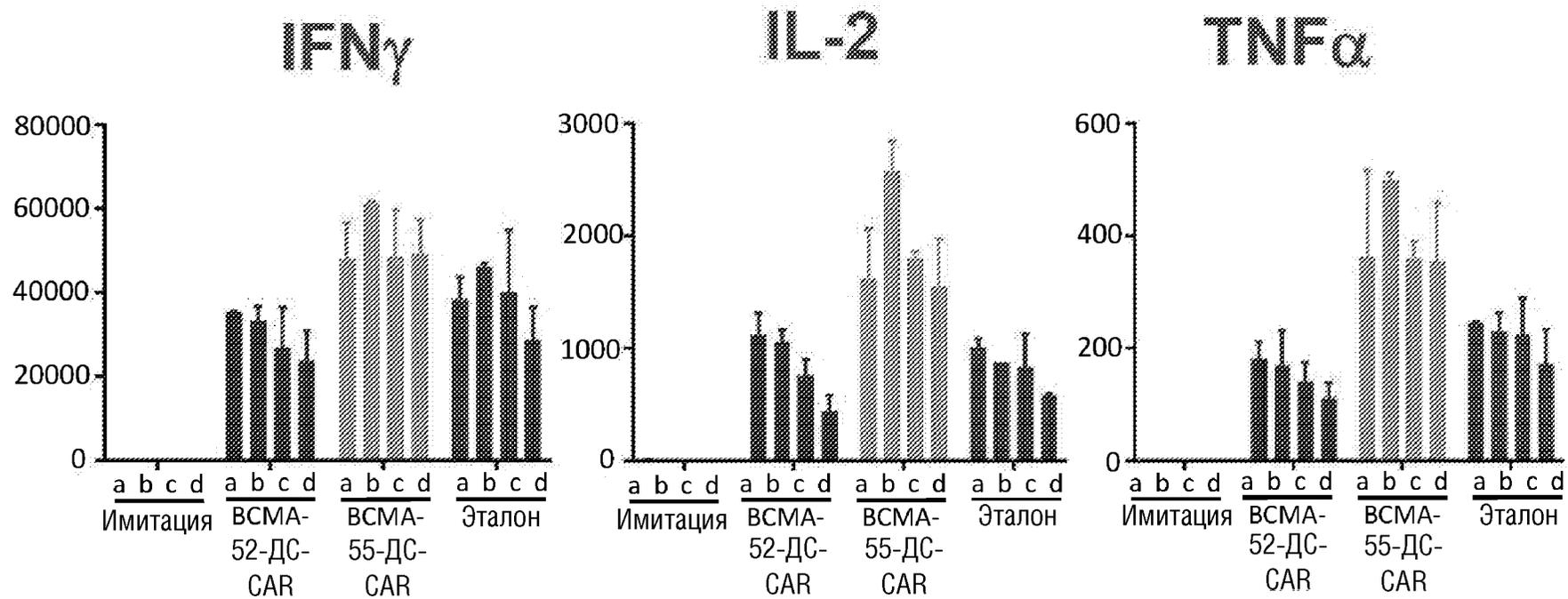


ФИГ.11А



0 ---> 111, 333, 1000 нг/мл    0 нг/мл    a  
 111 нг/мл    b  
 333 нг/мл    c  
 1000 нг/мл    d

ФИГ.11В

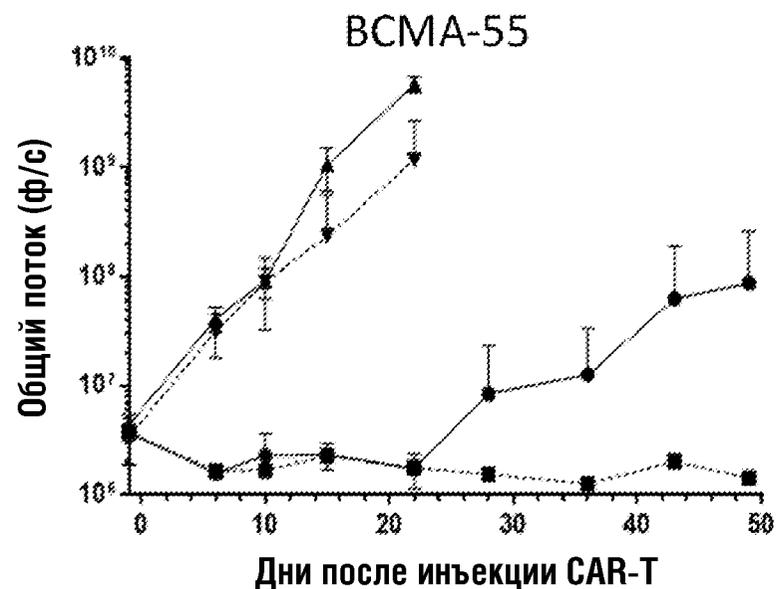
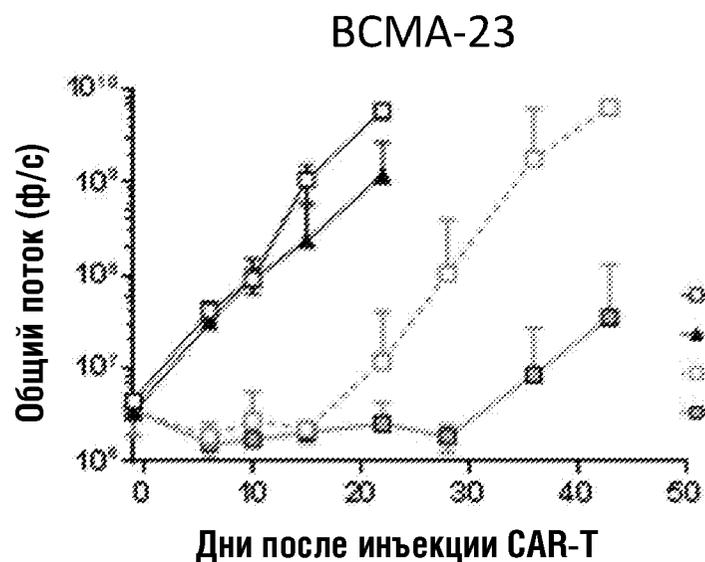
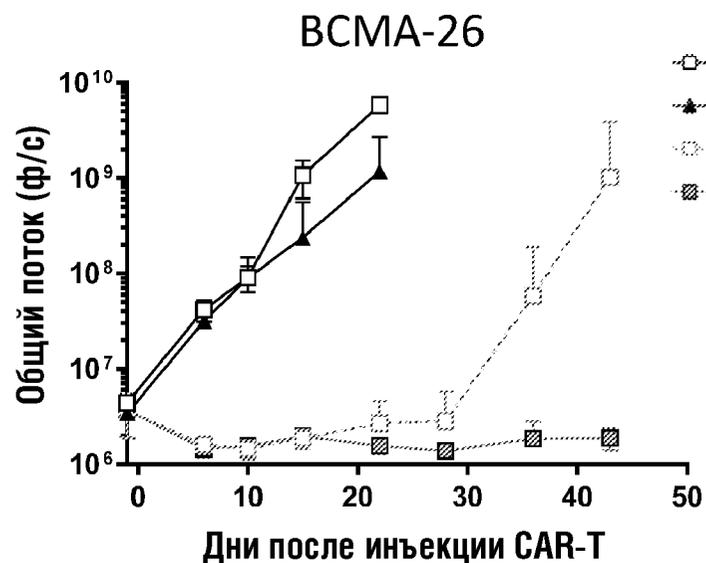


0--->111, 333, 1000 нг/мл

0 нг/мл    **a**  
 111 нг/мл    **b**  
 333 нг/мл    **c**  
 1000 нг/мл    **d**

ФИГ.12А

Донор 1

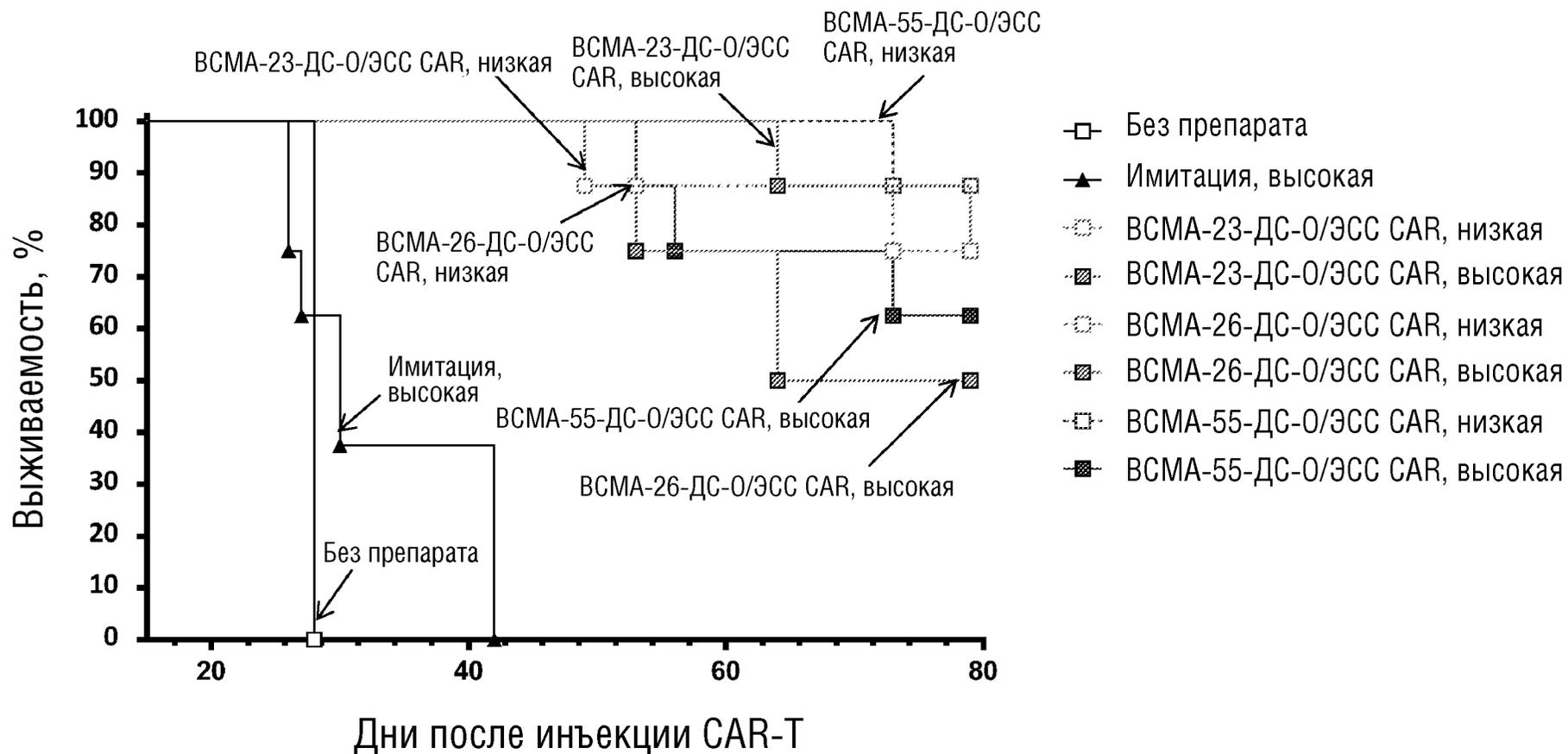


20/37

ФИГ.12В

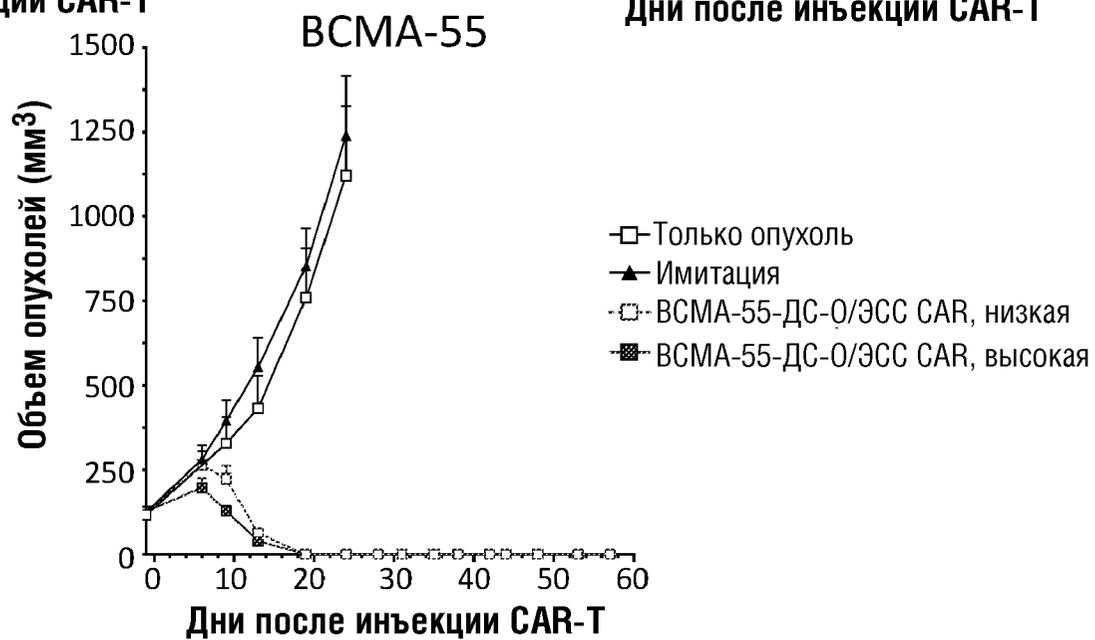
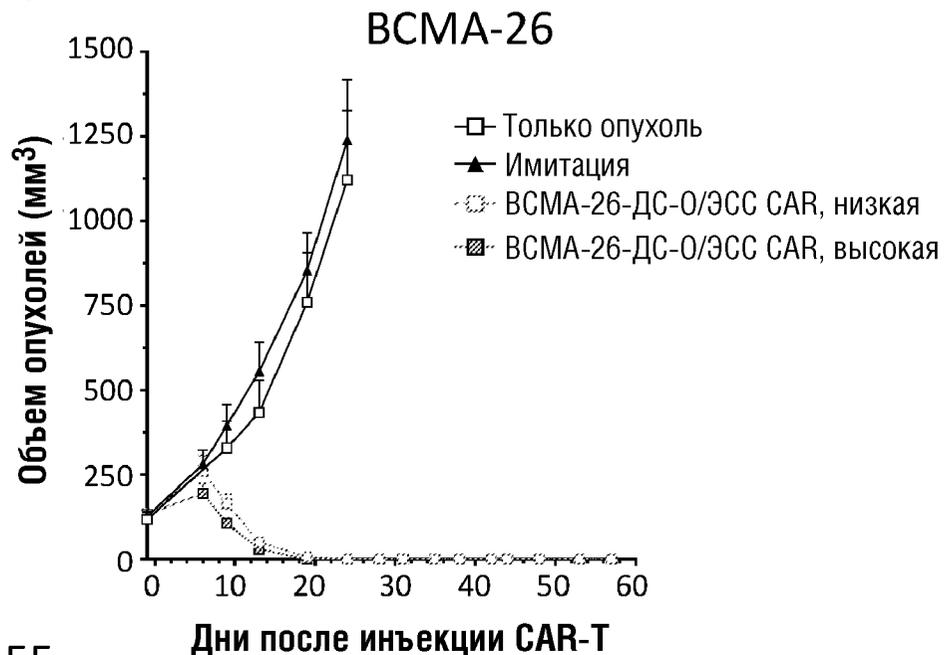
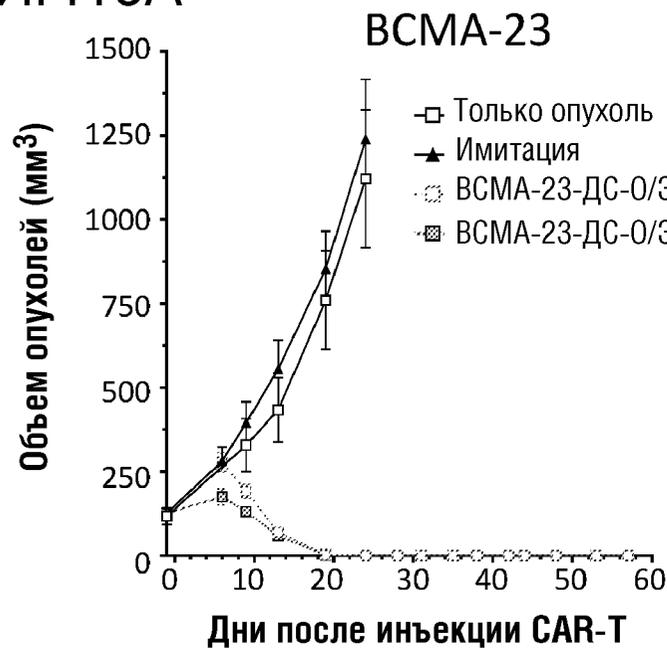
Донор 1

Выживаемость ВСМА CAR-T



ФИГ.13А

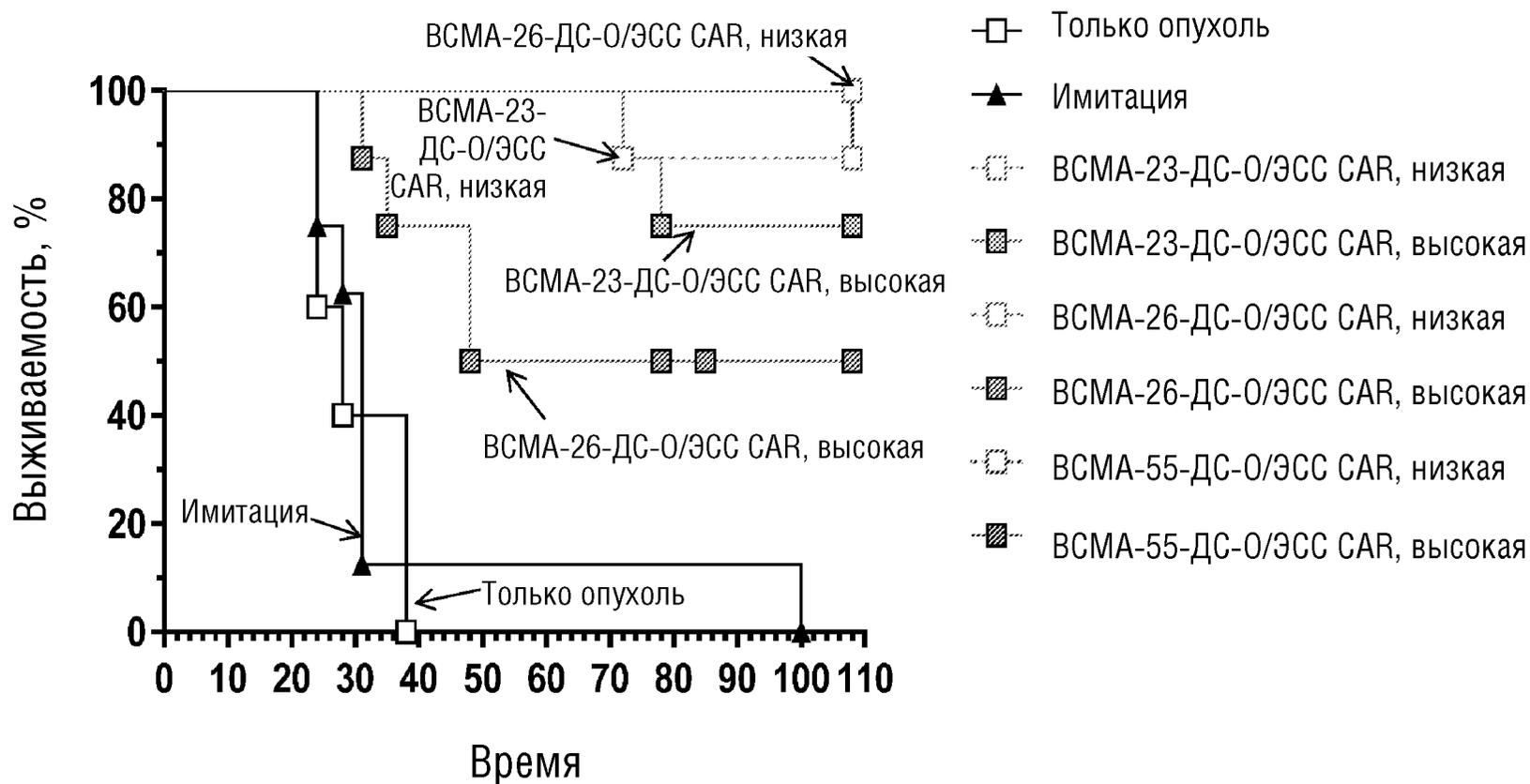
Донор 1



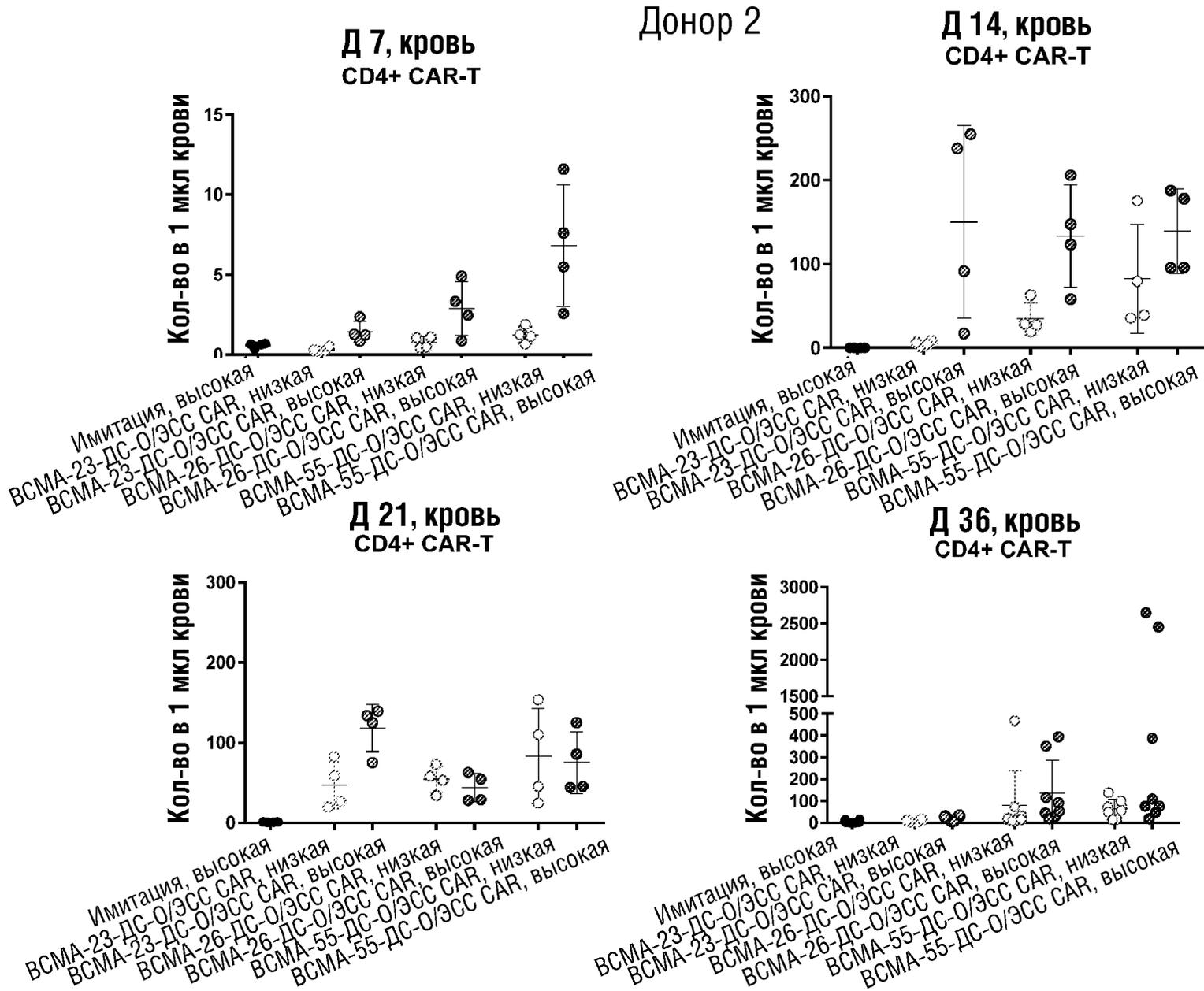
ФИГ.13В

Донор 1

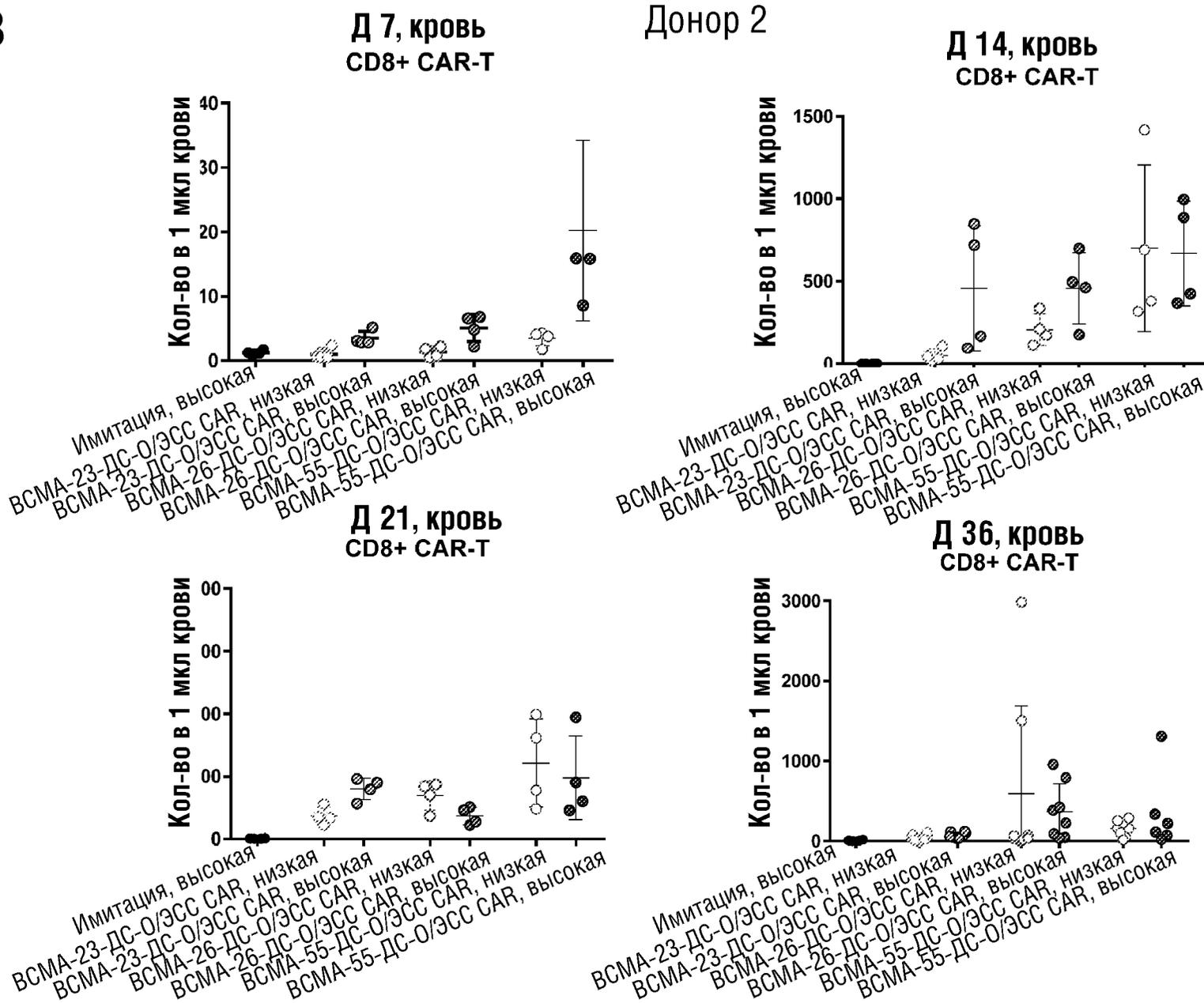
RPMI 1609, Выживаемость с конструктами



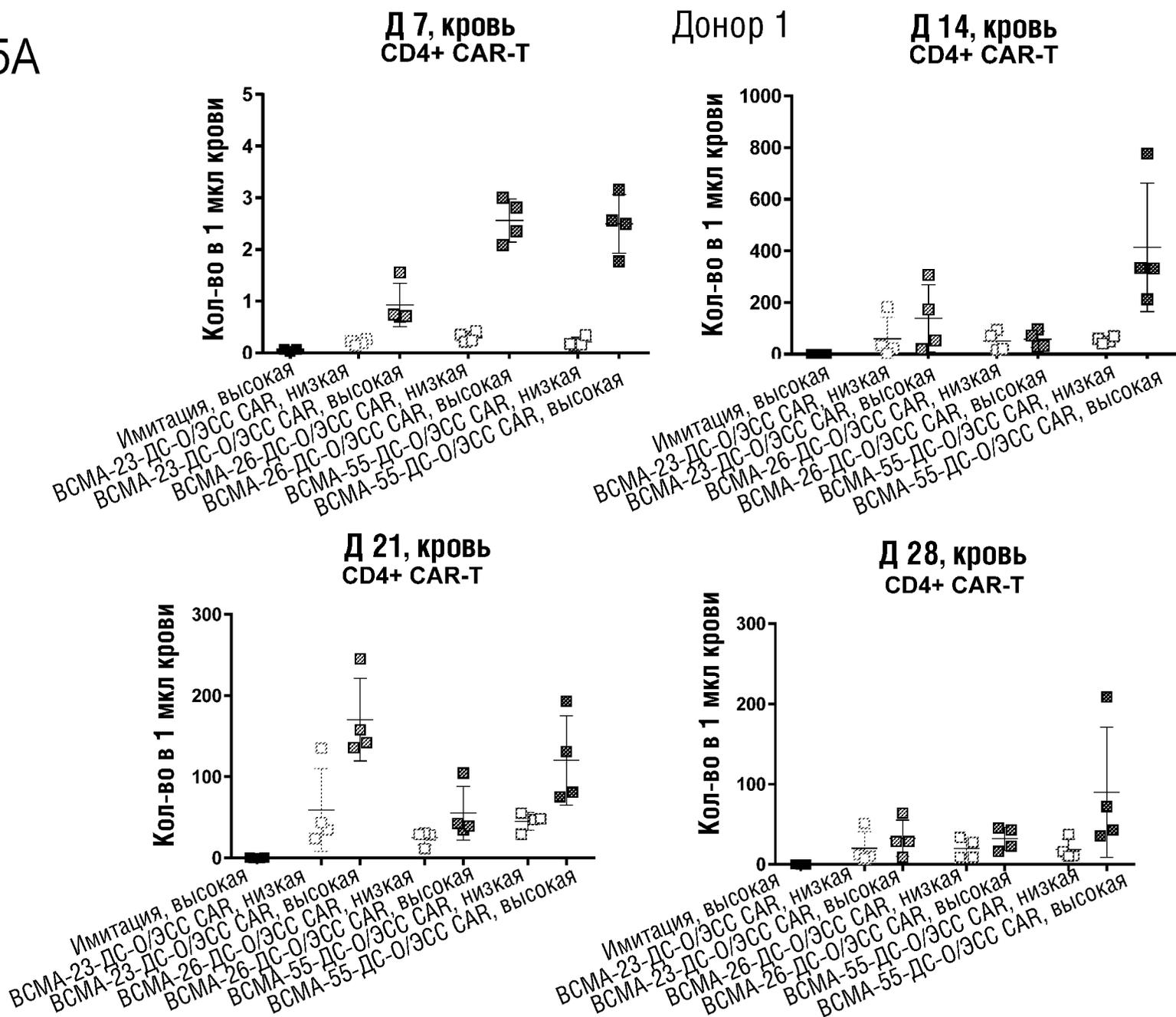
ФИГ.14А



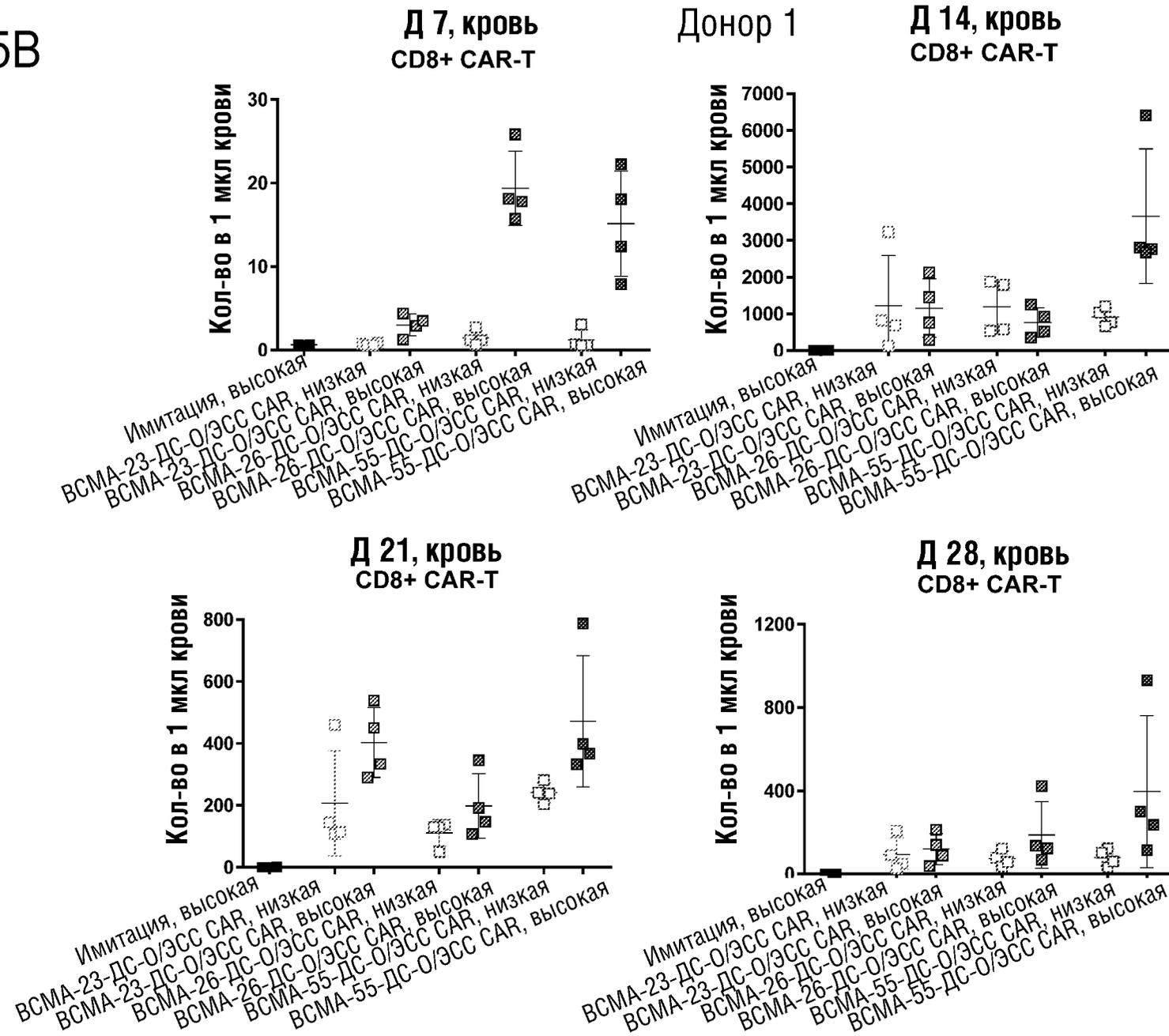
ФИГ.14В



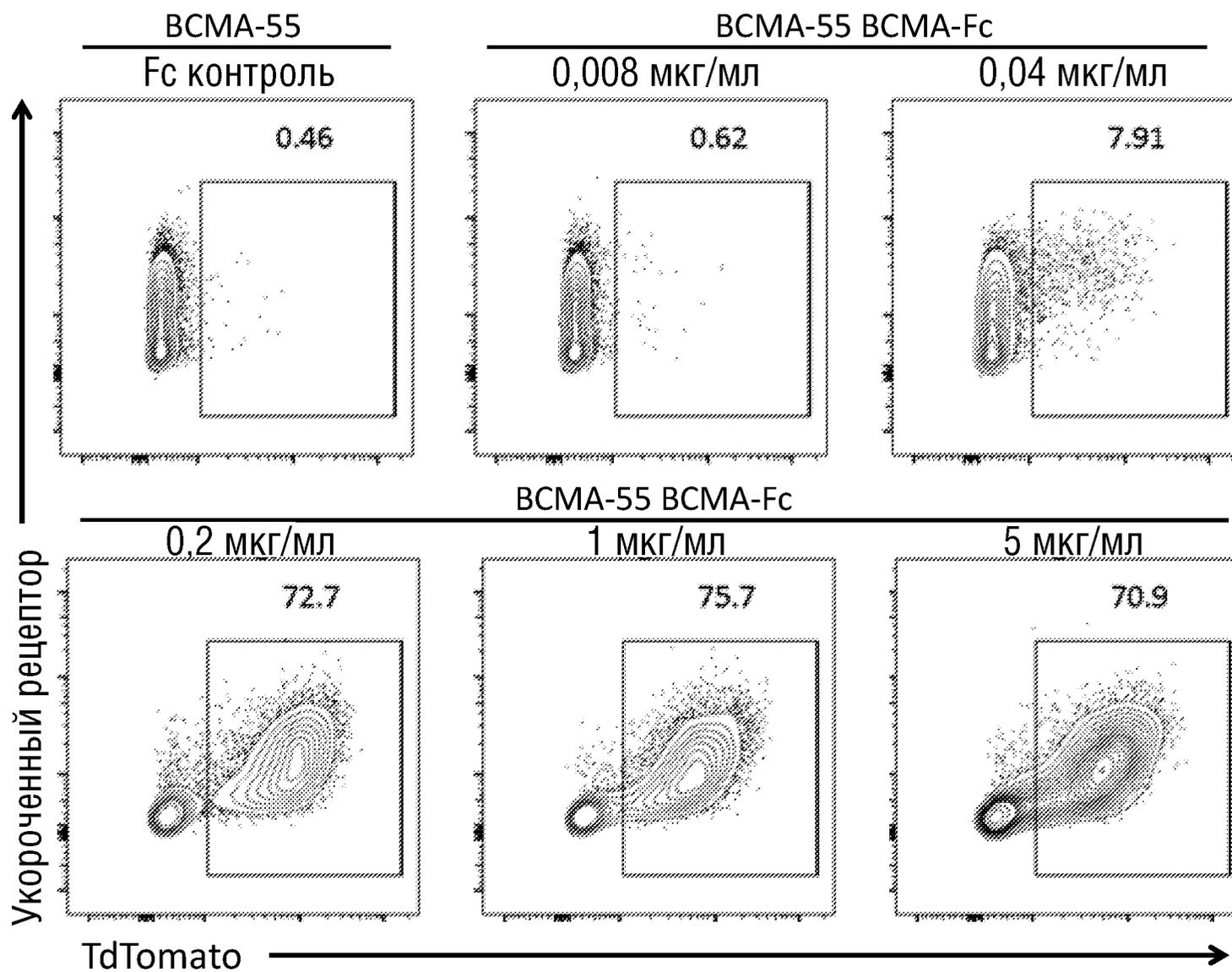
ФИГ.15А



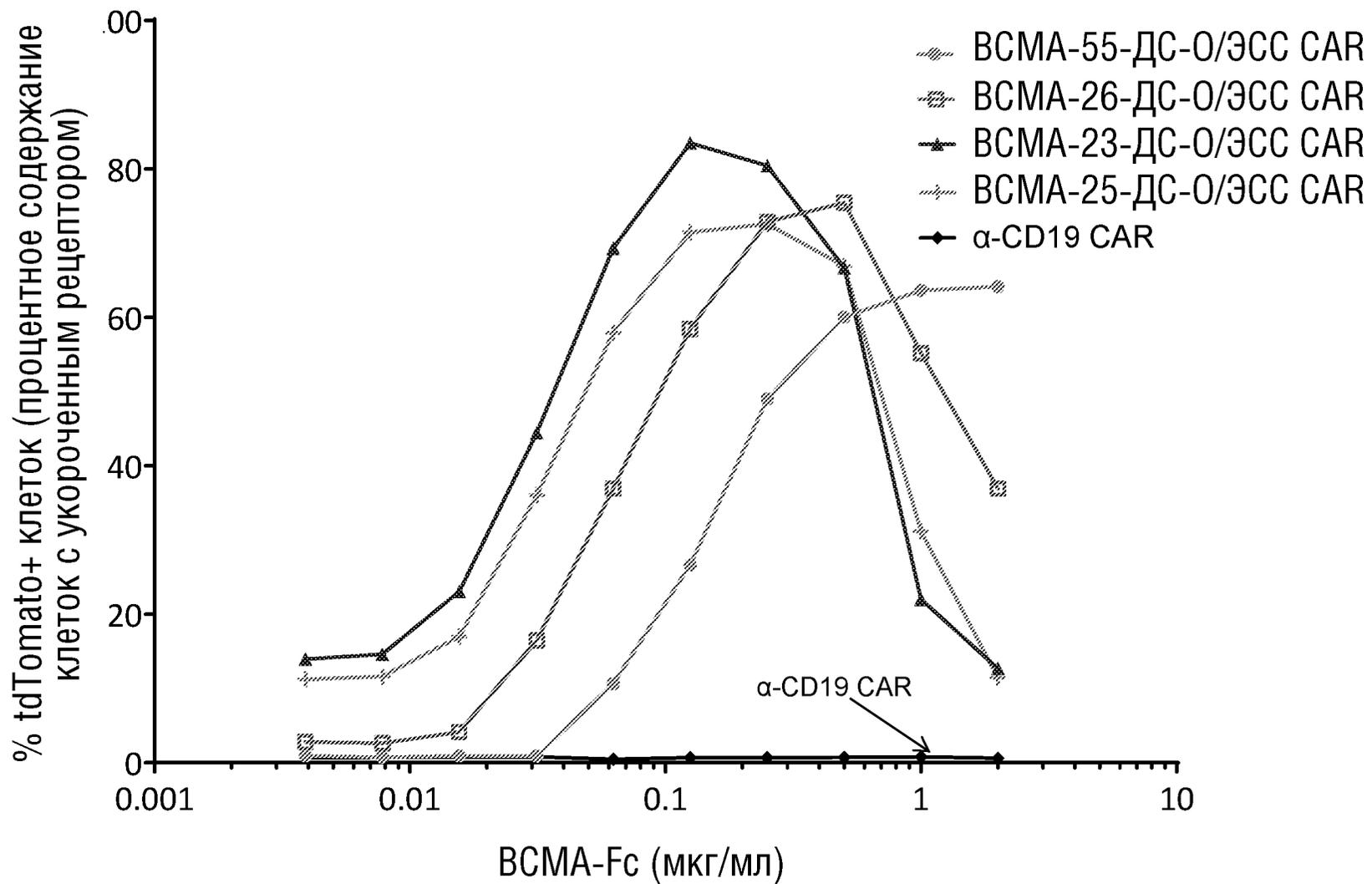
ФИГ.15В



ФИГ.16А

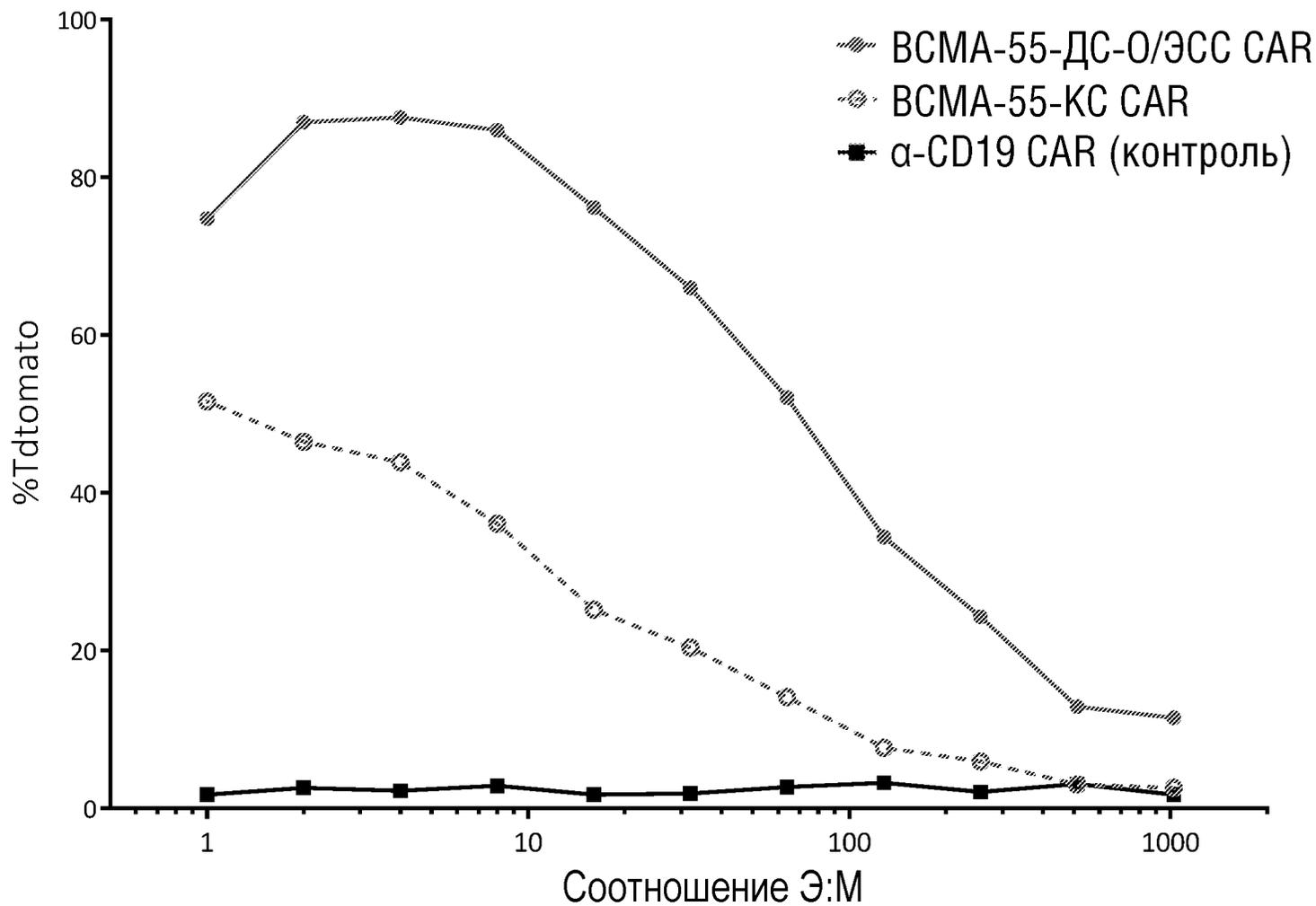


ФИГ.16В

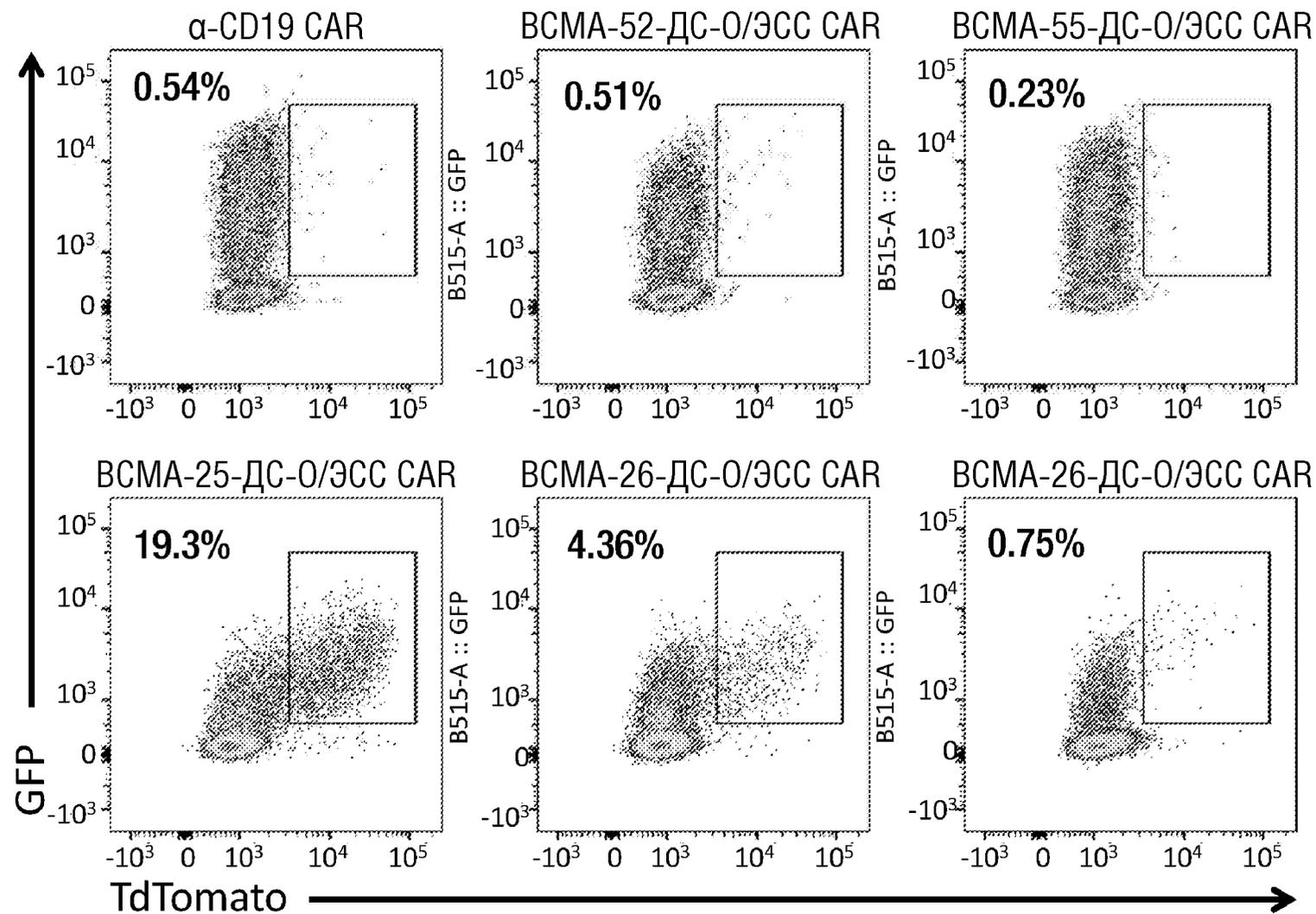


ФИГ.17

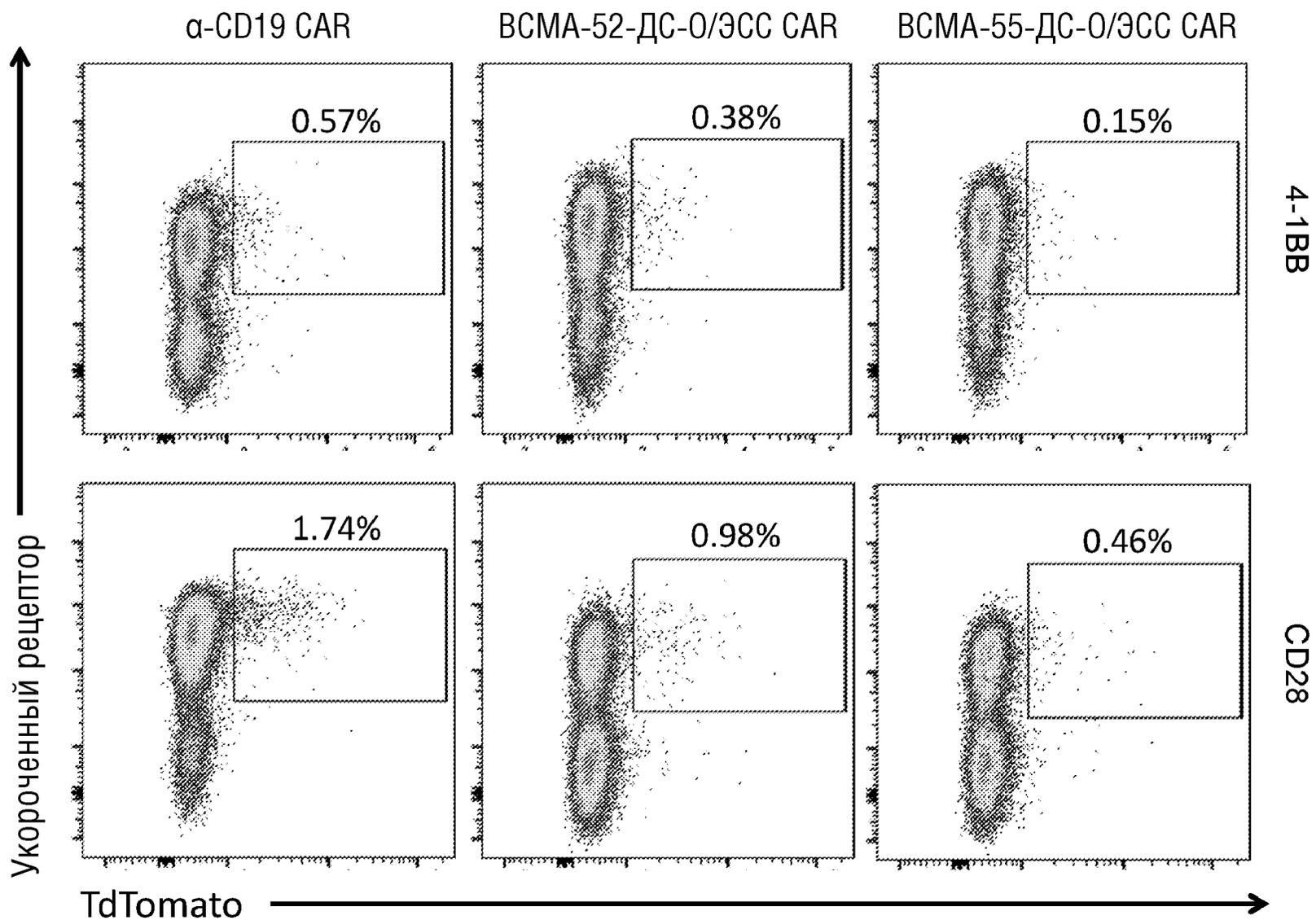
Совместное культивирование анти-BCMA CAR-экспрессирующих клеток-репортеров Nur77-tdTomato с клетками-мишенями BCMA+ K562



ФИГ.18

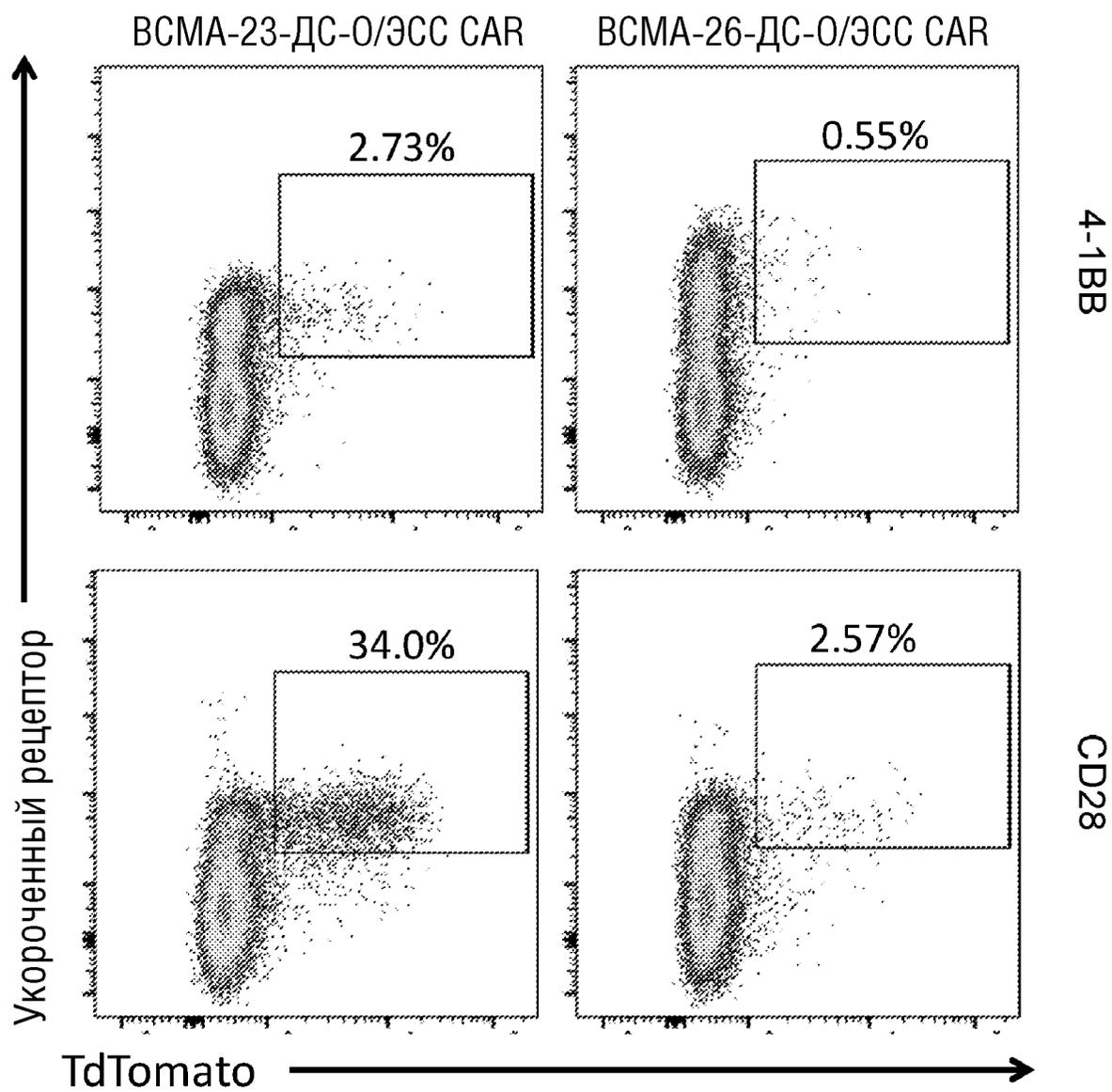


ФИГ.19А

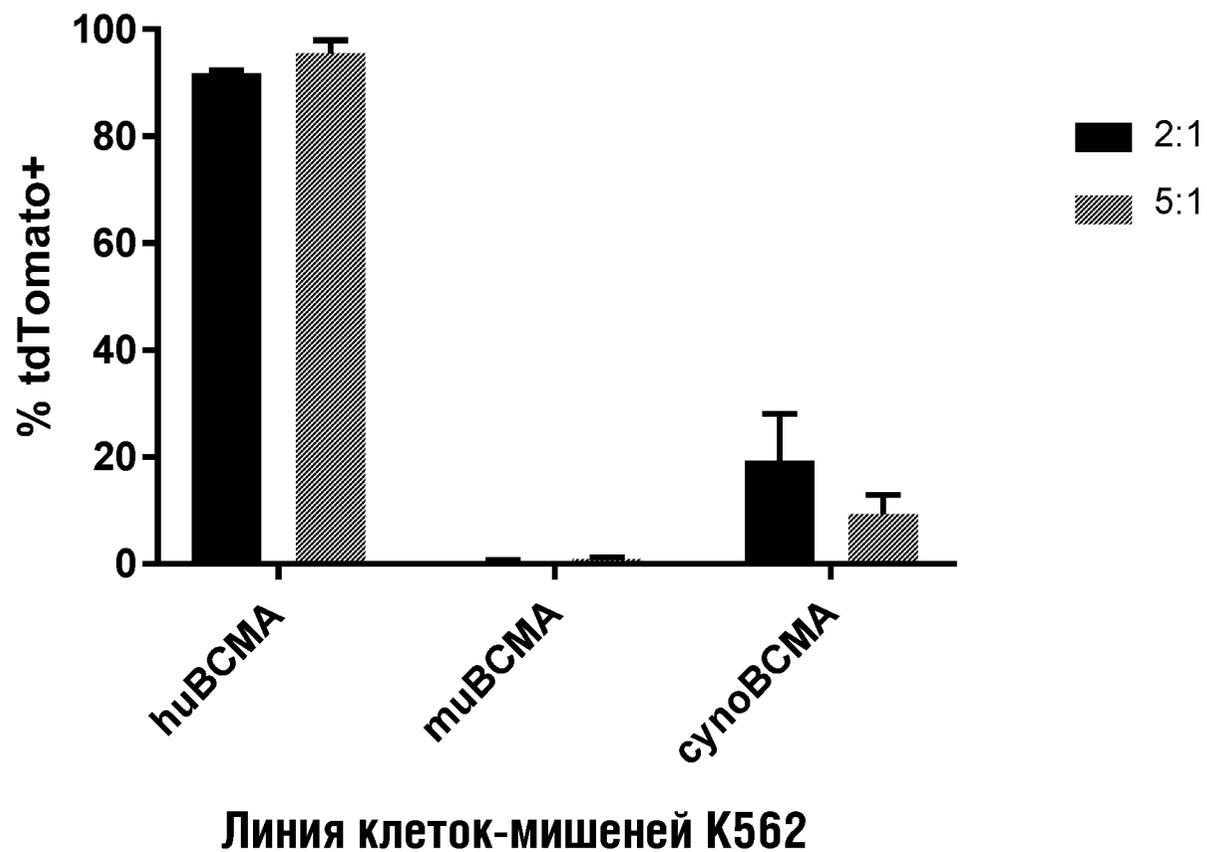


32/37

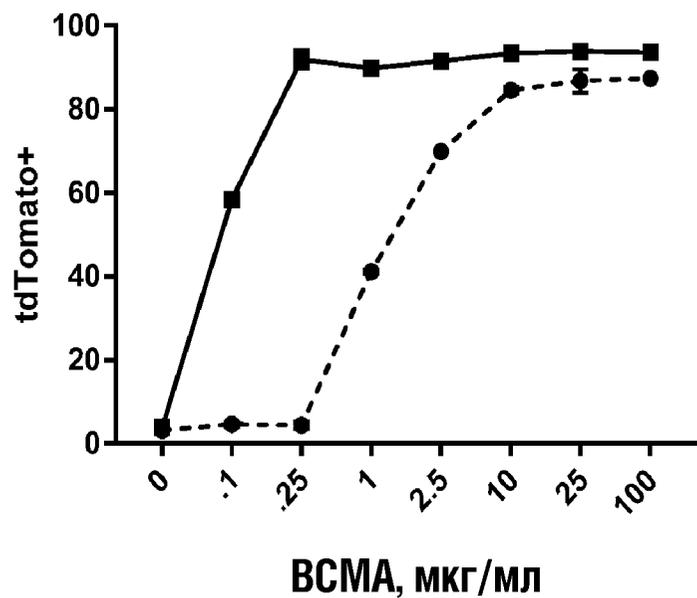
ФИГ.19В



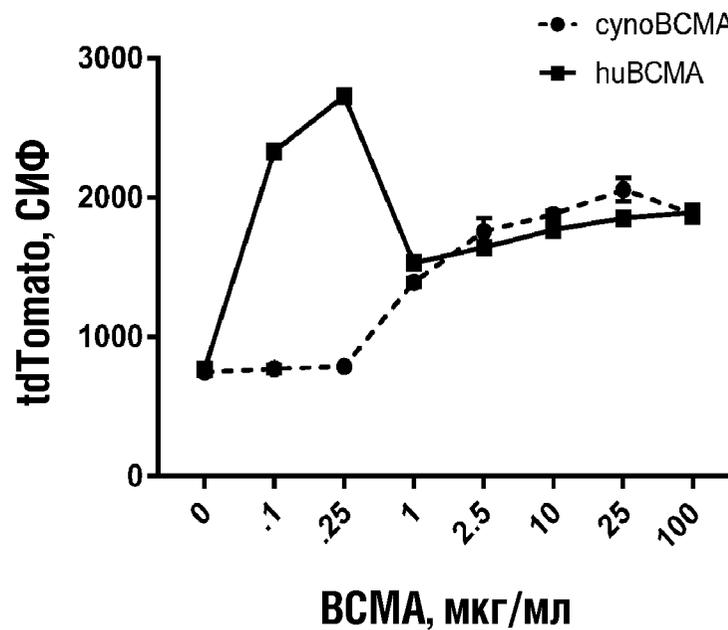
ФИГ.20А



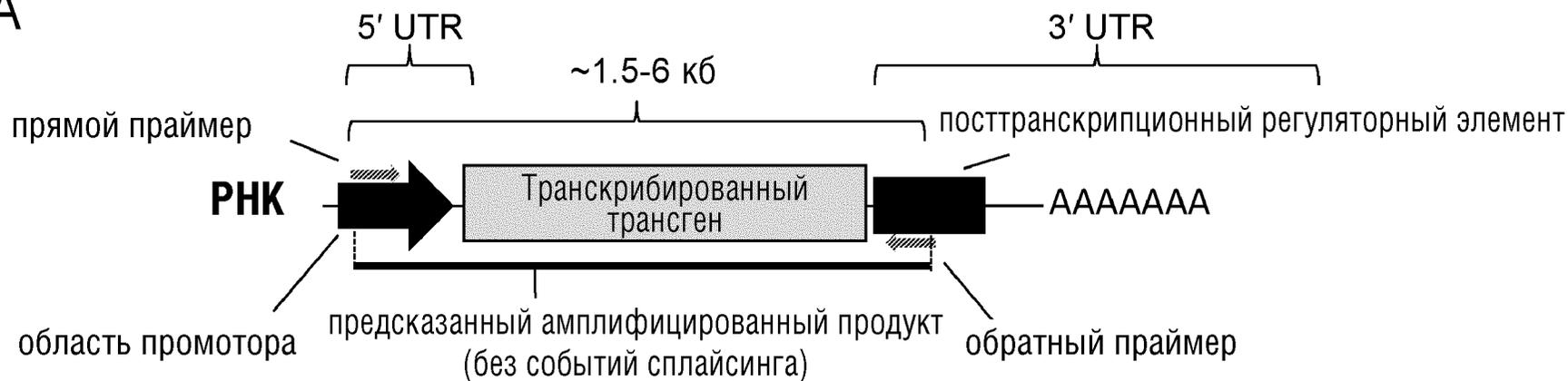
ФИГ.20В



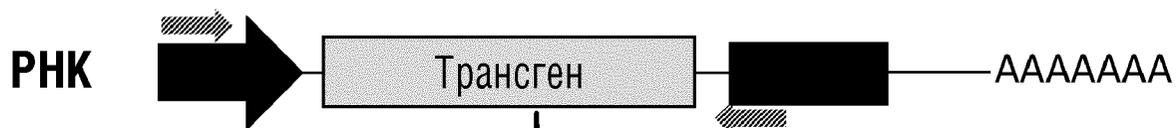
ФИГ.20В



ФИГ.21А

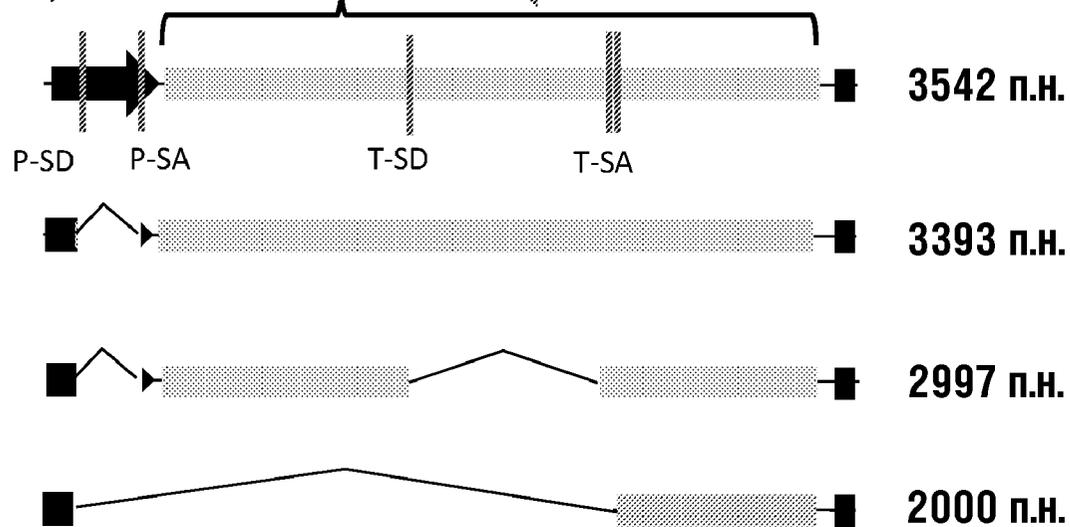


ФИГ.21В



Амплифицированные продукты

- a. без событий сплайсинга
- b. Ожидаемое событие сплайсинга внутри промотора
- c. Ожидаемое событие сплайсинга внутри промотора и неожиданное (скрытое) событие сплайсинга внутри трансгена
- d. Неожиданное (скрытое) событие сплайсинга внутри домена



ФИГ.21С

