

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202092945** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.04.29

(51) Int. Cl. *C12N 15/10* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.06.01

(54) РАЗЛИЧНЫЕ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ, НОВЫЕ ПЛАТФОРМЫ И ДРУГИЕ УЛУЧШЕНИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

(31) 62/679,741

(72) Изобретатель:

(32) 2018.06.01

Чаудхари Прит М. (US)

(33) US

(86) PCT/US2019/035096

(74) Представитель:

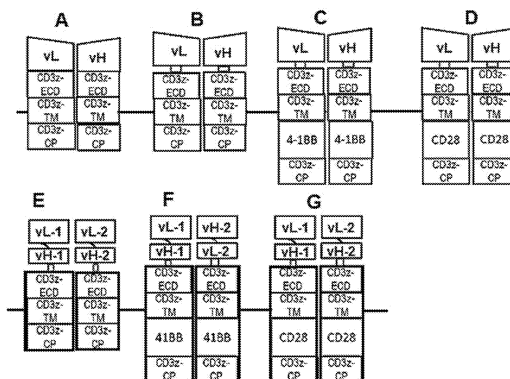
(87) WO 2019/232503 2019.12.05

Медведев В.Н. (RU)

(71) Заявитель:

**ЮНИВЕРСИТИ ОФ САУТЕРН
КАЛИФОРНИЯ (US)**

(57) В описании предложены различные антигенсвязывающие домены и платформы для создания обычных рецепторов химерного антигена и рецепторов химерного антигена следующего поколения для адоптивных клеточных терапий рака, инфекций, аллергических, дегенеративных и иммунных нарушений. Также представлены подходы для активации и размножения иммунных Т-клеток для адоптивной клеточной терапии рака, инфекции, аллергических, дегенеративных и иммунных нарушений.



A1

202092945

202092945

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-566619EA/030

РАЗЛИЧНЫЕ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ, НОВЫЕ ПЛАТФОРМЫ И ДРУГИЕ УЛУЧШЕНИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА СВЯЗАННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Эта заявка испрашивает приоритет предварительной заявки США № 62/679 741, поданной 1 июня 2018 г., раскрытие которой включено в настоящий документ для всех целей.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0002] В настоящем документе представлены различные антигенсвязывающие домены и новые платформы для конструирования обычных и химерных рецепторов антигенов следующего поколения для адоптивной клеточной терапии рака, инфекции, аллергических, дегенеративных и иммунных нарушений. Также предлагаются новые подходы к активации и размножению иммунных Т-клеток для адоптивной клеточной терапии рака, инфекции, аллергических, дегенеративных и иммунных нарушений.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0003] К этой документации прилагается список последовательностей под названием «Sequence_ST25.txt», созданный 1 июня 2019 г. и содержащий 80 373 218 байт данных, машинно отформатированных на IBM-PC, в операционной системе MS-Windows. Список последовательностей включен сюда в качестве ссылки во всей своей полноте для всех целей.

ЗАДНИЙ ПЛАН

[0004] CAR представляют собой синтетические иммунные рецепторы, которые могут перенаправлять Т-клетки для избирательного уничтожения опухолевых клеток. В отличие от физиологического Т-клеточного рецептора (TCR), который использует комплексы HLA-пептид, CAR взаимодействуют с молекулами, для распознавания которых не требуется пептидный процессинг или экспрессия HLA. Первоначальные CAR первого поколения были сконструированы путем слияния антигенсвязывающего домена на основе scFv (вариабельного одноцепочечного фрагмента) с инертным трансмембранным доменом CD8, связанным с цитоплазматическим сигнальным доменом, происходящим из CD3- ζ или γ -цепей рецептора Fc. Чтобы преодолеть отсутствие костимуляции Т-клеток, CAR первого поколения были дополнительно модифицированы, чтобы включить цитоплазматические сигнальные домены костимулирующих Т-клеточных рецепторов.

[0005] Несмотря на успех с CAR-Т-клетками, у этого подхода есть несколько ограничений, включая токсичность, такую как «синдром высвобождения цитокинов» (CRS) и нейротоксичность. Включение костимулирующего домена в конструкцию CAR приводит к нефизиологической передаче тонических сигналов через рецептор, что, в свою очередь, может способствовать их токсичности и отсутствию устойчивости.

[0006] Чтобы преодолеть некоторые ограничения конструкции обычных CAR 2-го поколения, было описано несколько альтернативных конструкций, совместно именуемых CAR следующего поколения, включая Ab-TCR (WO 2017/070608 A1, включенный в настоящий документ посредством ссылки), слитые белки рецептора TCR. или TFP (WO 2016/187349 A1, включенная в настоящий документ посредством ссылки), синтетические иммунные рецепторы (SIR) (см. WO 2018/102795 A1, включенную в настоящий документ посредством ссылки), трехфункциональный Т-клеточный антигенный соединитель (Tri-TAC) (см., WO 2015/117229 A1, включенную в настоящий документ посредством ссылки). Эти альтернативные конструкции CAR, как правило, лишены костимулирующего домена.

РЕЗЮМЕ

[0007] Следующие ниже варианты осуществления и их аспекты описаны и проиллюстрированы в сочетании с системами, композициями и способами, которые предназначены для того, чтобы быть примерными и иллюстративными, не ограничивая объем.

[0008] В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к композициям, содержащим генетически измененные эффекторные клетки (такие как клетки NK и Т - клетки), которые включают полинуклеотиды, которые кодируют химерный антиген рецепторов, синтетические иммунные рецепторы (SIRS) и тому подобное т шляпы могут быть использованы на адоптивная клеточная терапия для лечения рака, инфекционных, аутоиммунных и дегенеративных заболеваний.

[0009] В некоторых вариантах осуществления раскрытие обеспечивает платформу синтетических иммунных рецепторов, обозначенных zSIR, содержащих две цепи CD3z. В полинуклеотидных последовательностях цепей CD3z, которые могут быть использованы в конструкции zSIR предусмотрены в, например, SEQ ID NO: 67 и 71. Соответствующие аминокислотные последовательности представлены в SEQ ID NO: 4066 и 4070 соответственно. Раскрытие предусматривает, что vL фрагмент антитела может быть присоединен к одному из двух цепей CD3z и vH фрагмент может быть присоединен к другой CD3z цепи. Когда две такие цепи (например, vL-CD3z и vH-CD3z) коэкспрессируются в одной и той же клетке, фрагменты vL и vH могут связываться со своим родственным антигеном и передавать сигнал Т-клетки. В частности, Т- клетки, экспрессирующие такой zSIR, при воздействии на линию клеток, экспрессирующих родственный антиген-мишень, могут активировать передачу сигналов NFAT, индуцировать продукцию IL2, способствовать пролиферации Т-клеток, способствовать активации Т-клеток и проявлять цитотоксичность. Экспрессия и активность zSIR может быть дополнительно увеличена за счет введения линкера между vL/vH и фрагментов CD3z. В частности, IgCL (SEQ ID NO: 28 и 4027) и IgCH домены (SEQ ID NO: 29 и 4028), полученная из антител, служат в качестве полезных линкеров между vL/vH и CD3z фрагментами.

[0010] Раскрытие также предоставляет несколько новых антигенсвязывающих доменов, которые можно использовать в генерации обычных CAR (например, CAR 2-го

поколения, содержащих костимулирующий домен 41BB), а также CAR следующего поколения, таких как SIR, zSIR, Ab-TCR, Tri-TAC и TFP для использования в адоптивной клеточной терапии. В некоторых вариантах реализации эти антигенсвязывающие домены происходят из антител и антигенов-мишеней, экспрессируемых как в гематологических злокачественных новообразованиях, так и в солидных опухолях. SEQ ID NO, представляющие vL, vH и scFv фрагменты этих антигенсвязывающих доменов, показаны в таблице 3. SEQ ID NO, представляющие определяющие комплементарность области (CDR) легкой (vL) и тяжелой (vH) цепей, показаны в таблице 4. SEQ ID, представляющие нуклеиновые кислоты и аминокислоты обычных CAR (т.е. CAR 2-го поколения, содержащие костимулирующие домены 41BB) и CAR следующего поколения (например, SIR, zSIR, Ab-TCR и TFP) на основе этих антигенсвязывающих доменов, представляют собой показаны в таблицах 6 и 7. CAR, содержащие эти антигенсвязывающие домены, проявляют различные свойства *in vitro* и *in vivo*, такие как сродство связывания с антигенами-мишенями, секреция цитокинов, пролиферация, цитотоксичность, истощение и долгосрочное сохранение. Таким образом, CAR, содержащие эти целевые антигены, можно использовать для генерации различных иммунных ответов. Полинуклеотиды, полипептиды, экспрессирующие конструкции, рекомбинантно сконструированные клетки, экспрессирующие CAR, содержащие антигенсвязывающие домены, как описано в данном документе, и способ получения и использования таких полипептидов, полинуклеотидов и клеток описаны методами, известными в данной области и описанными в PCT/US2017/024843, WO 2014/160030 A2, WO 2016/187349 A1, PCT/US2016/058305, WO 2015/117229 A1 и PCT/US17/64379, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки. Иммунные клетки, экспрессирующие CAR, как обычные, так и следующего поколения, содержащие эти антигенсвязывающие домены, могут быть созданы и использованы для адоптивной клеточной терапии рака, инфекционных и иммунных нарушений с использованием способов, известных в данной области и описанных в PCT/US2017/024843, WO 2014/160030 A2, WO 2016/187349 A1, PCT/US2016/058305, WO 2015/117229 A1 и PCT/US17/64379, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

[0011] В описании также предложен способ улучшения переноса генов с использованием лентивирусных векторов путем совместной экспрессии белка Vif и CAR (например, обычного CAR, SIR, Ab-TCR, Tri-TAC или рекомбинантного TCR и т.п.) или Vif и любой другой терапевтический ген (например, ген β -глобина для лечения серповидноклеточной анемии). Примерный лентивирусный вектор (pLenti-EF1a-CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Мyc-CD8TM-BBz-2A-Vif), кодирующий CAR и совместно экспрессирующий Vif, представлен в SEQ ID NO: 11268. В некоторых вариантах реализации белок Vif предоставляется в транс-форме за счет совместной экспрессии Vif в упаковывающих клетках во время упаковки лентивирусного вектора. В таком варианте осуществления белок Vif упаковывается вместе с РНК, кодирующей лентивирусный вектор, в вирусные частицы и переносится в клетки-мишени. Белок Vif

можно экспрессировать в упаковывающих клетках способами, известными в данной области. В типичном варианте осуществления белок Vif экспрессируется в упаковывающих клетках путем котрансфекции вектора экспрессии млекопитающих (например, pCDNA3-Vif; SEQ ID NO: 11269), кодирующего Vif, с лентивирусным вектором-переносчиком, кодирующим интересующий ген (ы) (например, pLenti-EF1 α -CD8SP-MYC3-WT1-Ab13-vL-V5-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-SP-WT1-Ab13-vH-Myc4-[hTCR α -CSDVP]-F-F2A-PAC-DWPRE; SEQ ID NO: 151) и лентивирусный упаковывающий вектор (ы). Типичный лентивирусный упаковывающий вектор включает pMDLg/pRRE (плазмида Addgene 12251), которая представляет собой упаковывающую плазмиду лентивируса 3-го поколения, кодирующую Gag и Pol, а также требует pRSV-Rev (Addgene # 12253) и плазмиду, экспрессирующую оболочку pMD2.G (Addgene # 12259) для эффективной упаковки. Другим лентивирусным упаковывающим вектором является psPAX2 (Addgene плазмида № 12260), который представляет собой упаковывающую лентивирусную плазмиду 2-го поколения и может использоваться с плазмидой pMD2.G, экспрессирующей оболочку (Addgene № 12259), для упаковки лентивирусных векторов 2-го или 3-го поколения. В типичном варианте осуществления плазмида, кодирующая Vif, может быть котрансфицирована плазмидами psPAX2 и pMD2.G для упаковки лентивирусного вектора 2-го или 3-го поколения. В альтернативном примерном варианте осуществления плазмида, кодирующая Vif, может быть котрансфицирована плазмидами pMDLg/pRRE, pRSV-Rev и pMD2.G для упаковки лентивирусного вектора 3-го поколения. Vif также может коэкспрессироваться из того же вектора (ов), кодирующего другие лентивирусные упаковочные белки (например, gag, Pol и Rev). В иллюстративном варианте осуществления упаковывающая плазмида psPAX2 модифицируется для совместной экспрессии Vif способами, известными в данной области. В альтернативном иллюстративном варианте осуществления лентивирусная упаковывающая плазмида 3-го поколения, кодирующая Gag и Pol, модифицирована для экспрессии Vif путем слияния последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей Vif, в рамке с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей Pol, и отделенной от нее последовательностью линкера, расщепляемого P2A. В некоторых вариантах осуществления Vif экспрессируется в упаковывающих клетках временно, в то время как в других вариантах осуществления Vif стабильно экспрессируется в упаковывающих клетках. В некоторых вариантах осуществления Vif экспрессируется в клетках-мишенях временно, тогда как в других вариантах осуществления Vif стабильно экспрессируется в клетках-мишенях. В одном варианте осуществления Vif экспрессируется в клетках-мишенях (например, Т-клетках или стволовых клетках) временно путем электропорации вектора экспрессии млекопитающих (например, pCDNA3-Vif; SEQ ID NO: 11269), кодирующего Vif, или путем электропорации полипептида Vif. Клетки-мишени (например, Т-клетки или стволовые клетки), временно экспрессирующие Vif, впоследствии инфицируют лентивирусным вектором, кодирующим CAR или любой интересующий терапевтический ген (например, β -глобин).

[0012] Поликлональная природа иммунного ответа является ключом к его успеху в борьбе с различными инфекциями. Напротив, современные методы лечения CAR обычно основаны на нацеливании на один антиген и/или один эпитоп одного антигена. Потеря целевого антигена или целевого эпитопа - частая причина неудач современных методов лечения CAR. Чтобы преодолеть это ограничение, в описании представлены CAR против множества антигенов и против множества эпитопов одного антигена. Эти CAR можно использовать в подходящих комбинациях для обеспечения поликлонального и разнообразного адаптивного иммунного ответа для предотвращения или лечения заболеваний, таких как рак, инфекционные заболевания, аутоиммунные заболевания, аллергические заболевания и дегенеративные заболевания.

[0013] В описании также представлены вспомогательный модули, которые могут быть экспрессированы в адоптивно перенесенных Т-клетках (например, CAR-Т-клетки, TCR-Т-клетки и TIL), чтобы влиять на их выживание, пролиферацию, активацию, эффекторные функции (например, секрецию цитокинов, цитотоксичность и др.), истощение и стойкость *in vivo*.

[0014] Раскрытие обеспечивает по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один химерный антигенный рецептор (CAR) 1-го или следующего поколения, причем по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид содержит: (a) домен первой нуклеиновой кислоты, кодирующий частичную или полную трансмембрану и/или цитоплазматический домен и необязательно внеклеточный домен эндогенного белка, где эндогенный белок экспрессируется на поверхности лимфоцитов и запускает активацию и/или пролиферацию лимфоцитов; (b) необязательно полинуклеотидный линкер; и (c) второй домен нуклеиновой кислоты, функционально связанный с первым доменом нуклеиновой кислоты, где второй домен нуклеиновой кислоты кодирует один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, где связывающий домен выбран из указанного связывающего домена. в таблице 3; (d) необязательный третий домен нуклеиновой кислоты, кодирующий костимулирующий домен; и необязательный дополнительный домен нуклеиновой кислоты, кодирующий вспомогательный модуль. В одном варианте первая нуклеиновая кислота частично или полностью кодирует по меньшей мере одну цепь Т-клеточного рецептора (TCR), как указано в таблице 13. В другом или дополнительном варианте первая нуклеиновая кислота функционально кодирует по меньшей мере один трансмембранный домен из таблицы 13 связаны с цитоплазматическим доменом TCR-типа. В другом или дополнительном варианте осуществления полинуклеотид кодирует CAR, где CAR включает: (i) частичную или полную константную цепь Т-клеточного рецептора (TCR), имеющую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 75% идентичности последовательности с выбранной последовательностью из SEQ ID NO: 4038-4063, 12602-12638, и которая может содержать необязательный костимулирующий модуль; (ii) необязательный линкер; и (iii) один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, связанных с (a) выбранными из

связывающего домена, приведенного в таблице 3; (iv) дополнительный вспомогательный модуль; и (v) димер полипептида, включающий (i) - (iv). В другом или дополнительном варианте осуществления рекомбинантный полинуклеотид содержит последовательность, кодирующую любую из последовательностей в Таблице 2. В другом или дополнительном варианте осуществления вспомогательный модуль содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 4103-4117 и 4090-4096. В другом или дополнительном варианте осуществления закодированный CAR содержит (1) любой из CAR 1-16 из таблицы 1 и/или (2) остовов из таблицы 2; и (3) связывающий домен из Таблицы 3. В другом или дополнительном воплощении (i) представляет собой константную цепь CD3z TCR. В другом или дополнительном воплощении полинуклеотид обеспечивает два химерных антигенных рецептора первого или следующего поколения. В другом или дополнительном воплощении полинуклеотид кодирует димер константных цепей CD3z.

[0015] Раскрытие также обеспечивает по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один химерный антигенный рецептор следующего поколения (CAR), причем по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид содержит: (a) первый домен нуклеиновой кислоты, кодирующий частичную или полную трансмембрану и/или цитоплазматический домен и, возможно, внеклеточный домен эндогенного белка CD3z, имеющий последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4064-4066, 4070-4072 и 4075-4078, где эндогенный белок экспрессируется на поверхности лимфоцитов и запускает активацию и/или разрастание лимфоцитов; (b) необязательно полинуклеотидный линкер; и (c) второй домен нуклеиновой кислоты, функционально связанный с первым доменом нуклеиновой кислоты, где второй домен нуклеиновой кислоты кодирует один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, где связывающий домен выбран из указанного связывающего домена. в **таблице 3**; и (d) необязательный третий домен нуклеиновой кислоты, кодирующий костимуляторный модуль; и необязательную дополнительную нуклеиновую кислоту, кодирующую вспомогательный модуль. В другом или дополнительном варианте последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие эндогенный белок CD3z, выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 67 и 71. В другом или дополнительном варианте по меньшей мере один CAR следующего поколения содержит два CAR, каждый из которых содержит Цепочка CD3z. В другом или дополнительном варианте осуществления vL фрагмент антитела функционально связан с одной из двух цепей CD3z и vH фрагмент антитела функционально связан с другой CD3z цепи. В другом или дополнительном воплощении цепи vL и vH выбраны из пар в **таблицах 3 и 4** для конкретной антигенной мишени. В другом или дополнительном варианте осуществления линкер предусмотрен между цепями vL/vH и/или CD3z. В другом или дополнительном воплощении кодируемый линкер выбран из группы, состоящей из IgCL (SEQ ID NO (ДНК): 28 и SEQ ID NO (PRT): 4027) и доменов IgCH (SEQ ID NO (ДНК): 29 и SEQ ID NO (PRT): 4028). В другом или дополнительном

варианте осуществления дополнительно содержит третий домен нуклеиновой кислоты, кодирующий костимулирующий модуль. В другом или дополнительном воплощении костимулирующий модуль содержит белок 41BB или CD28. В другом или дополнительном воплощении костимулирующий модуль содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4067 и 4068. В другом или дополнительном воплощении костимулирующий модуль содержит сигнальный домен из любого одного или нескольких из CD134 (OX40), Dap10, CD27, CD2, CD5, ICAM-1, LFA-1, Lck, TNFR-I, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 и их комбинации. В другом или дополнительном варианте осуществления дополнительно содержит вспомогательный модуль, при этом вспомогательный модуль содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 4103-4117 и 4090-4096.

[0016] В описании также представлена рекомбинантная клетка, экспрессирующая гомо- или гетеродимер рецептора химерного антигена (CAR) 1-го или следующего поколения, причем гомо- или гетеродимер содержит: (а) первый домен, кодирующий частичный или полный трансмембранный и/или цитоплазматический домен и необязательно внеклеточный домен эндогенного белка, где эндогенный белок экспрессируется на поверхности лимфоцитов и запускает активацию и/или пролиферацию лимфоцитов; (б) необязательно пептидный линкер; и (с) второй домен, функционально связанный с первым доменом, где второй домен содержит один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, где связывающий домен выбран из связывающего домена, приведенного в таблице 3; и (d) необязательный третий домен, кодирующий костимулирующий модуль, при этом клетка необязательно содержит вспомогательный модуль, в котором гомо- или гетеродимер связывается на поверхности рекомбинантной клетки. В другом или дополнительном варианте осуществления клетка трансформируется по меньшей мере одним рекомбинантным полинуклеотидом, как описано в данном документе. В другом или дополнительном варианте осуществления клетка представляет собой Т-лимфоцит (Т-клетку). В другом или дополнительном варианте осуществления клетка представляет собой наивные Т-клетки, центральные Т-клетки памяти, эффекторные Т-клетки памяти, Treg или их комбинацию. В другом или дополнительном варианте осуществления клетка представляет собой естественную киллерную (NK) клетку, гемопоэтическую стволовую клетку (HSC), эмбриональную стволовую клетку или плюрипотентную стволовую клетку. В другом или дополнительном варианте реализации вспомогательный модуль содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 4103-4117 и 4090-4096. В другом или дополнительном воплощении рекомбинантная клетка экспрессирует или сконструирована для экспрессии HIV1-vif.

[0017] В описании предложен химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий (а) первый домен, кодирующий частичный или полный трансмембранный и/или цитоплазматический домен, и, необязательно, внеклеточный домен эндогенного белка, где эндогенный белок экспрессируется на поверхности лимфоцитов и запускает активацию

и/или пролиферацию лимфоцитов; (б) необязательно пептидный линкер; и (с) второй домен, функционально связанный с первым доменом, где второй домен содержит один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, где связывающий домен выбран из связывающего домена, приведенного в таблице 3; и (d) необязательный третий домен, кодирующий костимуляторный модуль. В другом или дополнительном варианте осуществления эндогенный белок содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4064-4066, 4070-4072, 4075-4078 и 12637. В другом или дополнительном варианте первая нуклеиновая кислота кодирует частично или полностью по меньшей мере, одна цепь Т-клеточного рецептора (TCR), как указано в Таблице 13. В другом или дополнительном варианте осуществления первая включает трансмембранный домен из Таблицы 13, функционально связанный с цитоплазматическим доменом соответствующего TCR-типа. В другом или дополнительном варианте осуществления CAR содержит: (i) частичную или полную константную цепь Т-клеточного рецептора (TCR), имеющую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 75% идентичности последовательности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 4038-4063, 12602-12638 и может содержать дополнительный костимуляторный модуль.

[0018] В описании предложен полинуклеотид, кодирующий рецептор химерного антигена, как описано выше и в настоящем документе.

[0019] Раскрытие также обеспечивает вектор, содержащий полинуклеотид (ы), описанный в данном документе.

[0020] Раскрытие также обеспечивает вирус, содержащий полинуклеотид (ы), как описано в данном документе. В другом или дополнительном варианте осуществления вирус представляет собой ретровирус, аденовирус, аденоассоциированный вирус, лентивирус, вирус оспы или вирус герпеса.

[0021] Настоящее изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую: одно или более из изобретений, описанный здесь, и фармацевтически приемлемый носитель.

[0022] В раскрытии также предложен способ лечения рака, включающий: предоставление композиции, рекомбинантной клетки по раскрытию и введение терапевтически эффективного количества композиции или клетки субъекту для лечения рака. В другом или дополнительном воплощении рак представляет собой рак крови. В другом или дополнительном воплощении рак крови представляет собой любое одно или несколько из острого миелоидного лейкоза, хронического миелоидного лейкоза, миелодиспластического синдрома, лимфомы, множественной миеломы и острого лимфоцитарного лейкоза. В другом воплощении рак представляет собой солидную опухоль.

[0023] В одном варианте осуществления в настоящем документе представлена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая SIR (т.е. CAR следующего поколения), где антигенспецифический домен SIR нацелен на CD19, и SIR необязательно экспрессирует вариант K13-vFLIP с оптимизированными кодонами (K13-опт). В иллюстративных

вариантах реализации последовательности выделенных фрагментов нуклеиновой кислоты, нацеленные на CD19, изложены в SEQ ID NO: 14056-14059 и 14109-14112. В иллюстративных вариантах реализации последовательности выделенного полипептида, нацеленного на CD19 и необязательно коэкспрессирующего K13-vFLIP, представлены в SEQ ID NO: 15800-15803 и 15853-15856. В некоторых вариантах реализации фрагменты vL и vH, нацеленные на CD19, описаны в таблице 3 и представлены в SEQ ID NO (ДНК): 12662, 12693 и 12656 и 12687 и SEQ ID NO (PRT): 14406, 14437 и 14400 и 14431. В настоящем документе также представлены полипептиды, кодируемые нуклеиновыми кислотами, кодирующими SIR и необязательно кодирующими K13-vFLIP, при этом антигенспецифический домен SIR нацелен на CD19. Кроме того, в настоящем документе представлены векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на CD19. В примерных вариантах осуществления вектор, кодирующий SIR, нацеленный на CD19, представлен в SEQ ID NO: 12641. В настоящем документе также представлены генно-инженерные клетки (такие как Т-клетки, NKT-клетки), содержащие векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и K13-vFLIP, причем антигенспецифический домен SIR нацелен на CD19. Также предложены способы лечения и профилактики заболевания, когда вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют CD19.

[0024] В одном варианте осуществления в настоящем документе представлена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая SIR, где антигенспецифический домен SIR нацелен на MPL, а SIR необязательно экспрессирует вариант K13-vFLIP с оптимизированным кодоном (K13-opt). В примерных вариантах реализации последовательности выделенных фрагментов нуклеиновой кислоты, нацеленные на MPL, представлены в SEQ ID NO: 13791-13792 и 13844-13845. В иллюстративных вариантах реализации последовательности выделенного полипептида, нацеленного на MPL и необязательно коэкспрессирующего K13-vFLIP, представлены в SEQ ID NO: 15535-15536 и 15588-15589. В некоторых вариантах реализации фрагменты vL и vH, нацеленные на MPL, описаны в таблице 3 и представлены в SEQ ID NO (ДНК): 12665, 12696 и 12658 и 12689 и SEQ ID NO (PRT): 14409, 14440 и 14402 и 14433. В настоящем документе также представлены полипептиды, кодируемые нуклеиновыми кислотами, кодирующими SIR и необязательно кодирующими K13-vFLIP, при этом антигенспецифический домен SIR нацелен на MPL. Далее в настоящем документе представлены векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на MPL. В примерных вариантах осуществления вектор, кодирующий MPL, нацеленный на SIR, представлен в SEQ ID NO: 14384. В настоящем документе также представлены генно-инженерные клетки (такие как Т-клетки, NKT-клетки), содержащие векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и необязательно кодирующие K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на MPL. Также предложены способы лечения и профилактики заболевания, когда вызывающие

заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют MPL.

[0025] В одном варианте осуществления в настоящем документе представлена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая SIR, где антигенспецифический домен SIR нацелен на BCMA, и SIR необязательно экспрессирует вариант K13-vFLIP с оптимизированными кодонами (K13-opt). В иллюстративных вариантах реализации последовательности выделенных фрагментов нуклеиновой кислоты, нацеленные на BCMA, изложены в SEQ ID NO: 12890-12893, 12943-12946, 12996-12999, 13049-13052 и 12837-12840. В иллюстративных вариантах реализации последовательности изолированного полипептида, нацеленного на BCMA и необязательно коэкспрессирующего K13-vFLIP, представлены в SEQ ID NO: 14634-14637, 14687-14690, 14740-14743, 14793-14796 и 14581-14584. В некоторых вариантах реализации фрагменты vL и vH, нацеленные на BCMA, описаны в таблице 3 и представлены в SEQ ID NO (ДНК): 12670 и 12701, 12669 и 12700, 12671-12702, 12657 и 12688, 12654 и 12685 и SEQ ID NO (PRT): 14414 и 14445, 14413 и 14444, 14415 и 14446, 14398 и 14429, 14401 и 14432. В настоящем документе также представлены полипептиды, кодируемые нуклеиновыми кислотами, кодирующими SIR и необязательно кодирующими K13-vFLIP, причем антигенспецифический домен SIR нацелен на BCMA. Кроме того, в настоящем документе представлены векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на BCMA. В примерных вариантах реализации векторы, кодирующие SIR, нацеленную на BCMA, представлены в SEQ ID NO: 14378 и 14385. В настоящем документе также представлены генно-инженерные клетки (такие как Т-клетки, NKT-клетки), содержащие векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и необязательно кодирующие K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на BCMA. Также предложены способы лечения и профилактики заболевания, при котором вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют BCMA.

[0026] В одном варианте осуществления в настоящем документе представлена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая SIR, где антигенспецифический домен SIR нацелен на MSLN, а SIR необязательно экспрессирует вариант K13-vFLIP с оптимизированными кодонами (K13-opt). В примерных вариантах реализации последовательности выделенных фрагментов нуклеиновой кислоты, нацеленные на MSLN, изложены в SEQ ID NO: 14268-14269, 14321-14322 и 14374-14375. В иллюстративных вариантах реализации последовательности выделенного полипептида, нацеленного на MSLN и необязательно коэкспрессирующего K13-vFLIP, представлены в SEQ ID NO: 16012-16013, 16065-16066 и 16118-16119. В некоторых вариантах реализации фрагменты vL и vH, нацеленные на MSLN, описаны в таблице 3 и представлены в SEQ ID NO (ДНК): 12668 и 12699, 12667 и 12698, и 12666-12697 и SEQ ID NO (PRT): 14412 и 14443. , 14411 и 14442 и 14410 и 14441. В настоящем документе также представлены полипептиды, кодируемые нуклеиновыми кислотами, кодирующими SIR и необязательно кодирующими K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на MSLN.

Кроме того, в настоящем документе представлены векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на MSLN. В примерных вариантах осуществления векторы, кодирующие SIR, нацеленный на MSLN, представлены в SEQ ID NO: 14381 и 14383. В настоящем документе также представлены генно-инженерные клетки (такие как Т-клетки, NKT-клетки), содержащие векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и необязательно кодирующие K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на MSLN. Также предложены способы лечения и профилактики заболевания, когда вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют MSLN.

[0027] В одном варианте осуществления в настоящем документе представлена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая SIR, где антигенспецифический домен SIR нацелен на CD22, и SIR необязательно экспрессирует вариант K13-vFLIP с оптимизированными кодонами (K13-opt). В иллюстративных вариантах реализации последовательности выделенных фрагментов нуклеиновой кислоты, нацеленные на CD22, изложены в SEQ ID NO: 13314-13317, 13420-13423, 13473-13476 и 14215-14218. В иллюстративных вариантах реализации последовательности выделенного полипептида, нацеленного на CD22 и необязательно коэкспрессирующего K13-vFLIP, представлены в SEQ ID NO: 15058-15061, 15164-15167, 15217-15220 и 15959-15962. В некоторых вариантах реализации фрагменты vL и vH, нацеленные на CD22, описаны в таблице 3 и представлены в SEQ ID NO (ДНК): 12663 и 12694, 12655 и 12686, 12643 и 12674, 12652 и 12683 и SEQ ID NO (PRT): 14407 и 14438, 14399 и 14430, 14387 и 14418, 14396 и 14427. В настоящем документе также представлены полипептиды, кодируемые нуклеиновыми кислотами, кодирующими SIR и необязательно кодирующими K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на CD22. Кроме того, в настоящем документе представлены векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на CD22. В примерных вариантах осуществления вектор, кодирующий SIR, нацеленный на CD22, представлен в SEQ ID NO: 12640. В настоящем документе также представлены генно-инженерные клетки (такие как Т-клетки, NK-клетки), содержащие векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SIR и необязательно кодирующие K13-vFLIP, где антигенспецифический домен SIR нацелен на CD22. Также предложены способы лечения и профилактики заболевания, когда вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют CD22.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ

[0028] **На фиг.1** изображает схематическое представление различных zSIRs. CD3z-ECD, CD3z-TM, CD3z-CP относится к внеклеточным, трансмембранным и цитоплазматическим доменам CD3z. 4-1BB и CD28 относятся к цитоплазматическим костимулирующим доменам 4-1BB и CD28.

[0029] **На фиг 2А -В** изображает индукцию IFN γ при совместном культивировании CAR-T-клеток согласно описанию с клетками RAJI (фигура 2А) и клетками Nalm6

(фигура 2B).

[0030] **На фиг 3** изображена *in vivo* эффективность CAR-T-клеток согласно настоящему описанию на модели ксенотрансплантата клеток RAJI, измеренная с использованием биолюминесцентной визуализации.

[0031] **На фиг 4** изображена *in vivo* эффективность CAR-T-клеток согласно настоящему описанию в модели ксенотрансплантата клеток Nalm6, измеренная с использованием биолюминесцентной визуализации.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0032] Используемые здесь и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают в себя множественные ссылки, если контекст явно не диктует иное. Таким образом, например, ссылка на «клетку» включает множество таких клеток, а ссылка на «полинуклеотид» включает в себя ссылку на один или несколько полинуклеотидов и так далее.

[0033] Кроме того, использование «или» означает «и/или», если не указано иное. Аналогичным образом, «содержать», «включает», «содержащий», «включать», «включает» и «включающий» взаимозаменяемы и не предназначены для ограничения.

[0034] Также следует понимать, что там, где в описаниях различных вариантов осуществления используется термин «содержащий», специалисты в данной области техники поймут, что в некоторых конкретных случаях вариант осуществления может быть альтернативно описан с использованием языка «состоящий по существу из» или «состоящий из».

[0035] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой принадлежит это изобретение.

[0036] Термин «примерно», когда он относится к измеряемой величине, такой как количество, временная продолжительность и т.п., предназначен для охвата изменений в $\pm 20\%$ или в некоторых случаях $\pm 10\%$, или в некоторых случаях $\pm 5\%$, или в некоторых случаях $\pm 1\%$, или в некоторых случаях $\pm 0,1\%$ от указанного значения, поскольку такие вариации подходят для выполнения раскрытых способов или описания композиций в данном документе.

[0037] Термин «Ab-TCR» или «AbTCR» относится к платформе CAR следующего поколения, как описано в WO 2017/070608 A1, которая включена в настоящий документ посредством ссылки. В одном из вариантов осуществления Ab-TCR содержит фрагмент антитела, который специфически связывается с антигеном-мишенью, слитым с модулем TCR, способным привлекать по меньшей мере один сигнальный модуль TCR. Типичные модули TCR, которые можно использовать при конструировании Ab-TCR, представлены в SEQ ID NO: 959-964 (таблица 6D) в WO2019067805 и в WO 2017/070608 A1, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Типичные Ab-TCR, нацеленные на BCMA и коэкспрессирующие вспомогательный модуль, кодирующий NEMO-K277A, представлены в SEQ ID NO: 4382-4383 (таблица 6). Однако кодирование дополнительного

модуля NEMO-K277A не является обязательным. Ab-TCR с антигенсвязывающими доменами (т.е. фрагментами vL и vH, лигандами и рецепторами и т.д.), описанными в этом описании, можно сконструировать без NEMO-K277A. По существу, этот вспомогательный модуль вместе с вышестоящей последовательностью Furine-SGSG-F2A может быть удален из Ab-TCR. В качестве альтернативы, вспомогательный модуль, кодирующий NEMO-K277A, может быть заменен вспомогательными модулями, кодирующими другие белки, например hNEMO-K277A-дельтаV249-K555, mNEMO-K270A, K13-opt, IKK2-S177E-S181E или IKK1-S176E-S180E, и MyD88 -L265P, FKBPx2-NEMO, NEMO-L600-FKBPx2 и т.д. Кроме того, модули TCR, присутствующие в Ab-TCR, могут быть заменены другими модулями TCR, описанными в WO 2017/070608 A1.

[0038] Термин «вспомогательный модуль» относится к элементу, который экспрессируется совместно с CAR (включая CAR следующего поколения, например, SIR, zSIR, Ab-TCR, Tri-TAC, TFP и т. Д.) И/или rTCR для увеличения, снижения, регулируют или изменяют экспрессию или активность клеток, экспрессирующих CAR/rTCR или CAR/rTCR. Примеры дополнительных модулей включают любой один или несколько из 41BBL, CD40L, HIV1-Vif, vFLIP K13, MC159, cFLIP-L/MRIT α , cFLIP-p22, HTLV1 Tax, HTLV2 Tax, HTLV2 Tax-RS мутант, FKBPx2-K13, FKBPx2- HTLV2-Tax, FKBPx2-HTLV2-Tax-RS, IL6R-304-vHH-Alb8-vHH, IL12f, PD1-4H1 scFV, PD1-5C4 scFV, PD1-4H1-Alb8-vHH, PD1-5C4-Alb8-vHH, CTLA4-ипилиумаб-scFv, CTLA4-ипилиумаб-Alb8-vHH, IL6-19A-scFV, IL6-19A-scFV-Alb8-vHH, sHVEM, sHVEM-Alb8-vHH, hTERT, Fx06, hNEMO-K277A, направленный на Brd4-K277A их сочетание. Вспомогательный модуль может быть коэкспрессирован с CAR/rTCR и т.п. с использованием одного вектора или двух или более разных векторов. В некоторых вариантах реализации дополнительные модули уменьшают или предотвращают токсичность, связанную с CAR и/TCR и т.п. В некоторых вариантах реализации вспомогательный модуль повышает эффективность переноса гена, опосредованного лентивирусами.

[0039] Термин «антитело» в контексте настоящего описания относится к последовательности белка или полипептида, полученной из молекулы иммуноглобулина, которая специфически связывается с антигеном. Антитела могут быть моноклональными или поликлональными, много- или одноцепочечными, или интактными иммуноглобулинами и могут быть получены из природных источников или из рекомбинантных источников. Антитела могут представлять собой тетрамеры молекул иммуноглобулинов. Антитело может быть «гуманизированным», «химерным» или нечеловеческим.

[0040] Термин «фрагмент антитела» относится по меньшей мере к одной части антитела, которая сохраняет способность специфически взаимодействовать (например, путем связывания, стерических препятствий, стабилизации/дестабилизации, пространственного распределения) эпитопа антигена. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничиваются ими, Fab, Fab', F (ab'h, фрагменты Fv, фрагменты антител scFv, дисульфидно-связанные Fv (sdFv), фрагмент Fd, состоящий из доменов VH

и CH1, линейный антитела, однодоменные антитела, такие как sdAb (vL или vH), домены vHH верблюда, мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител, таких как двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области, и изолированный CDR или другие связывающие эпитоп фрагменты антитела. Антигенсвязывающий фрагмент также может быть включен в однодоменные антитела, макситела, мини-тела, нанотела, внутритела, диатела, тройные тела, тетратела, v-NAR и бис-scFv (см., например, Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23: 1126-1136, 2005). Антигенсвязывающие фрагменты также могут быть привиты в остововы на основе полипептидов, таких как фибронектин типа III (Fn3) (см. Патент США № 6703199, в котором описан полипептид фибронектина mini bodi. es).

[0041] Термин «тяжелая цепь антитела» относится к большему из двух типов полипептидных цепей, присутствующих в молекулах антител в их естественных конформациях, и который обычно определяет класс, к которому принадлежит антитело.

[0042] Термин «легкая цепь антитела» относится к меньшему из двух типов полипептидных цепей, присутствующих в молекулах антител в их естественных конформациях. Легкие цепи каппа (κ) и лямбда (λ) относятся к двум основным изотипам легкой цепи антитела.

[0043] Термин «противораковый эффект» или «противоопухолевый эффект» относится к биологическому эффекту, который может проявляться различными способами, включая, помимо прочего, уменьшение объема опухоли, уменьшение количества раковых клеток, уменьшение количества метастазов, увеличение продолжительности жизни, уменьшение пролиферации раковых клеток, уменьшение выживаемости раковых клеток или улучшение различных физиологических симптомов, связанных с раком. «Противораковый эффект» может также проявляться способностью CAR, SIR, TFP, Ab-TCR, Tri-Tac, zSIR и т.п. в первую очередь предотвращать возникновение рака.

[0044] «Противораковое средство» относится к средствам, которые ингибируют aberrantное клеточное деление и рост, ингибируют миграцию неопластических клеток, ингибируют инвазивность или предотвращают рост и метастазирование рака.

[0045] Термин «антиген» или «Ag» относится к молекуле, которая вызывает иммунный ответ.

[0046] Термин «антигенпрезентирующая клетка» или «APC» относится к любой клетке, которая экспрессирует на своей поверхности антиген, который может распознаваться иммунной клеткой или антителом, связывающимся с иммунной клеткой. Например, В-лимфоцит, экспрессирующий CD19, может служить антигенпрезентирующей клеткой для Т-клетки, экспрессирующей CAR, направленный против CD19. APC может представлять антиген независимо от молекулы МНС или в контексте молекулы МНС. APC может представлять антиген в комплексе с основными комплексами гистосовместимости (МНС). Т-клетки могут распознавать эти комплексы МНС-антиген, используя свои Т-клеточные рецепторы (TCR). В альтернативном варианте

осуществления APC могут представлять на своей поверхности антиген, который распознается природным (например, CD28 или 41BB) или синтетическим (например, CAR, SIR, zSIR, Ab-TCR, Tri-Tac или TFP и т. Д.) рецептор экспрессируется на Т-клетках независимо от МНС.

[0047] Термин «антигенпрезентирующий субстрат» или «APS» относится к любому субстрату, такому как шарик, микрошарик, планшет или любой матрикс, который отображает чужеродный антиген на своей поверхности. В одном варианте осуществления APS может представлять на своей поверхности антиген, который распознается природным (например, CD28 или 41BB) или синтетическим (например, обычным CAR, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP) рецептором. экспрессируется на Т-клетках. В типичном варианте реализации гранулы, покрытые внеклеточным доменом CD19 на своей поверхности, могут служить в качестве APS для Т-клеток, экспрессирующих CD19-направленный обычный CAR, SIR, zSIR, Ab-TCR или TFP.

[0048] Термин «противоинфекционный эффект» относится к биологическому эффекту, который может проявляться различными способами, включая, но не ограничиваясь, например, снижение титра инфекционного агента, уменьшение количества колоний инфекционного агента и уменьшение различных физиологических симптомов, связанных с инфекционным состоянием. «Противоинфекционный эффект» также может проявляться в способности пептидов, полинуклеотидов, клеток и антител в первую очередь предотвращать начало инфекции.

[0049] Используемый здесь термин «аффинность» означает меру силы связывания. Аффинность в некоторых случаях зависит от близости стереохимического соответствия между связывающим агентом и его мишенью (например, между антителом и антигеном, включая специфические эпитопы для связывающего домена), от размера области контакта между ними и от распределения заряженных и гидрофобных групп. Аффинность обычно относится к «способности» связывающего агента связывать свою цель. В данной области техники используются многочисленные способы измерения «аффинности». Например, методы расчета аффинности антитела к антигену известны в данной области, включая использование экспериментов по связыванию для расчета аффинности. Сродство связывания можно определить с использованием различных методик, известных в данной области, например, поверхностного плазмонного резонанса, интерферометрии биослоя, интерферометрии с двойной поляризацией, статического светорассеяния, динамического светорассеяния, калориметрии изотермического титрования, ELISA, аналитического ультрацентрифугирования и проточной цитометрии. Типичный способ определения сродства связывания использует поверхностный плазмонный резонанс. Поверхностный плазмонный резонанс - это оптическое явление, которое позволяет анализировать биоспецифические взаимодействия в реальном времени путем обнаружения изменений концентраций белка в матрице биосенсора, например, с использованием системы BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Упсала, Швеция и Пискатауэй, штат Нью-Джерси).

[0050] «Антигенсвязывающий домен» или «антигенсвязывающий модуль» или

«антигенсвязывающий сегмент» относится к полипептиду или пептиду, который благодаря своей первичной, вторичной или третичной последовательности и/или посттрансляционным модификациям и/или заряду связывается с антигеном с высокой степенью специфичности. Антигенсвязывающий домен может происходить из разных источников, например, из антитела, белка, не связывающего иммуноглобулин, лиганда или рецептора.

[0051] «Авидность» относится к силе взаимодействия между связывающим агентом и его мишенью (например, сила взаимодействия между антителом и его антигенной мишенью, рецептором и его родственником и т.п.). Антитела и аффинности могут фенотипически охарактеризовать и сравнить с использованием функциональных анализов (например, анализа проточной цитометрии и анализа Toranga).

[0052] Термин «константа ассоциации (K_a)» определяется как константа равновесия ассоциации рецептора и лиганда или антитела и антигена.

[0053] Термин «аутоантиген» относится к эндогенному антигену, который стимулирует выработку аутоиммунного ответа, такого как выработка аутоантител. Примеры аутоантигенов включают, но не ограничиваются ими, десмоглеин 1, десмоглеин 3 и их фрагменты.

[0054] Как используется в настоящем документе, термин «остовов» относится к конкретной комбинации CARs (таблица 1) и модулей аксессуаров, описанных в таблице 2. В образцовых воплощениях в таблице 2 описаны конкретные комбинации КАМЕР и модулей аксессуаров, которые составляют различные основы. В одном из воплощений CAR и модуль аксессуара кодируются одной молекулой нуклеиновой кислоты. В другом воплощении ЦАР кодируется первой молекулой нуклеиновой кислоты, а модуль аксессуара кодируется второй молекулой нуклеиновой кислоты. В некоторых воплощениях модуль аксессуара кодируется более чем одной молекулой нуклеиновой кислоты, в зависимости от количества компонентов в модулях аксессуаров.

[0055] Как используется в настоящем в настоящем случае "полезные результаты" может включать в себя, но ни в чем не ограничиваются, уменьшение или облегчение тяжести заболевания состояние, предотвращение заболевания состояние ухудшается, лечение состояния заболевания, предотвращение состояния болезни от разработки, снижение шансов пациента развивающихся состояние болезни и продления жизни пациента или продолжительности жизни.

[0056] При использовании в настоящем документе термин «обязательный домен» или «молекула антитела» относится к белку, например, цепочке иммуноглобулина или ее фрагменту, включающему по крайней мере один домен, например, последовательность переменного домена иммуноглобулина, которая может связываться с целью с сродством выше, чем неспецифический домен. Термин включает в себя антитела и фрагменты антител.

[0057] «Связывает тот же эпитоп, что и» означает способность антитела, scFv или другого антигенного связывающего домена связываться с целевым антигеном и иметь тот

же эпитоп, что и пример антитела, scFv или другой антигенный обязательный домен. Например, эпитопы иллюстрированное антитело, scFv или другой связывающий агент и другие антитела могут быть определены с помощью стандартных методов эпитопного картирования. Эпитоп, связанный антигенной связывающей областью обычного CAR или CAR следующего поколения (например, SIR, zSIR, TFP, Tri-Tac или Ab-TCR), также может быть определен анализом Epitope Binning. Epitope binning является конкурентоспособной иммуноанализа используется для характеристики, а затем сортировать библиотеку моноклональных антител против целевого белка. Антитела против аналогичной цели проверяются против всех других антител в библиотеке в паре образом, чтобы увидеть, если антитела блокируют связывание друг друга с эпитопом антигена. После того, как каждое антитело имеет профиль, созданный против всех других антител в библиотеке, создается конкурентный блокирующий профиль для каждого антитела по сравнению с другими в библиотеке. Близко связанные профили binning показывают что антитела имеют такой же или близко родственный epitope и «binned» совместно. Аналогичным образом, конформные эпитопы легко идентифицируются путем определения пространственной конформации аминокислот, таких как, например, обмен водородом/дейтериями, рентгеновская кристаллография и двумерный ядерный магнитный резонанс. Смотрите, например, Эпитоп картографические протоколы, supra. Антигенные области белков также могут быть определены с использованием стандартных антигенности и гидропатии участков, таких как те, рассчитанные с использованием, например, Omiga версия 1.0 программы, доступной из Оксфордской молекулярной группы. Эта компьютерная программа использует метод Хопп/Вудс, Хопп и др., (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. США* 78:3824-3828; для определения профилей антигенности и техники Кайт-Дулиттл, Kyte et al., (1982) *J.Mol. Biol.* 157: 1 05-132; для участков гидропатии. Чтобы определить, если выбранные моноклональные антитела против цели (например, CD19) связываются с уникальными эпитопами, каждое антитело может быть биотинилировано с использованием коммерчески доступных реагентов (Пирс, Рокфорд, Иллинойс). Конкурсные исследования с использованием немаркированных моноклональных антител и биотинилированных моноклональных антител могут быть выполнены с использованием CD19-extracellualr домена покрытием-ELISA пластин. Биотинилированный mAb связывания могут быть обнаружены с стрептококковый щелочной фосфатазы зонда.

[0058] В настоящем документе под термином «CDR», или «определяющая комплементарность область» подразумеваются не-непрерывные антигенсвязывающие сайты в пределах варибельной области полипептидов как тяжелых, так и легких цепей. Указанные конкретные области были описаны в источниках: Kabat et al., *J. Bioi. Chern.* 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991); Chothia et al., *J. Mol. Bioi.* 196:901-917 (1987); и MacCallum et al., *J. Mol. Bioi.* 25 262:732-745 (1996), определения в которых включают перекрывающиеся остатки или подгруппы остатков аминокислот, если проводить

сравнение указанных определений. Тем не менее, использование любого из определений для CDR антитела или привитых антител или их вариантов входит в объем термина, определенного и используемого в настоящем документе. В настоящем документе разные CDR антитела могут также быть определены комбинацией разных определений. Например, vHCDR1 может быть определена на основе Kabat, а VHCDR2 может быть определена на основе Chothia. Остатки аминокислот, включающие CDR согласно определениям в каждом из вышеперечисленных источников, представлены следующими:

ОПРЕДЕЛЕНИЯ CDR

	Kabat	Chothia	MacCallum
VHCDR1	31-35	26-32	30-35
VHCDR2	50-65	53-55	47-58
VHCDR3	95-102	96-10	193-101
VLCDR1	24-34	26-32	30-36
VLCDR2	50-56	50-52	46-55
VLCDR3	89-97	91-96	89-96

(Номера остатков соответствуют идентифицированным референсным номерам).

[0059] Термин «рамочная область» относится к признанным искусством частям переменной области антител, которые существуют между более расходящимися (т.е. гипервариантными) CDRs.

[0060] Предусмотрены изменения аминокислотной последовательности связывающих молекул, описанных в настоящем. Например, может быть желательно улучшить связывающее сродство и/или другие биологические свойства фрагментов vL и/или vH обычного CAR или CAR нового поколения (например, SIR, zSIR и тому подобное). Такие изменения включают, например, удаление из и/или вставки в остатки в аминокислотных последовательностях связывающих молекул и/или их замену. Любое сочетание удаления, вставки и замены может быть сделано, чтобы прийти к окончательной конструкции, при условии, что окончательная конструкция обладает желаемыми характеристиками. Изменения аминокислот также могут изменить пост-трансляционные процессы связывающих молекул, такие как изменение количества или положения участков гликозилирования. Предпочтительно, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 аминокислот могут быть заменены в CDR, в то время как 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, или 25 аминокислот могут быть заменены в рамках (FRs). Замены предпочтительно консервативные замены, как описано в настоящем. Кроме того, или в качестве альтернативы, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислот могут быть вставлены или удалены в каждом из CDRs (конечно, в зависимости от их длины), в то время как 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, или 25 аминокислот могут быть вставлены или удалены в каждом из FRs.

[0061] Предпочтительно, аминокислоты последовательности вставки включают аминокислоты и/или карбоксил-терминал слияний в длину от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также внутрисекции

вставки одного или нескольких аминокислотных остатков. Вставить вариант связывающей молекулы включает в себя слияние n- или C-терминуса антитела к ферменту или слияние с полипептидом, который увеличивает срок полусыдия антитела в сыворотке крови.

[0062] Другим вариантом является вариант замены аминокислот. Эти варианты имеют предпочтительно по крайней мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных остатков в связывающей молекуле, замененной другим остатком. К местам, представляющим наибольший интерес для замещающего мутагенеза, относятся CDRs тяжелой и/или легкой цепи, в частности гипервариантные регионы, но также предусмотрены изменения FR в тяжелой и/или легкой цепи.

[0063] Например, если последовательность CDR включает 6 аминокислот, предполагается, что одна, две или три из этих аминокислот будут заменены. Аналогичным образом, если последовательность CDR включает в себя 15 аминокислот, предполагается, что одна, две, три, четыре, пять или шесть из этих аминокислот заменяются.

[0064] Как правило, если аминокислоты заменяются в одном или более или всех CDRs тяжелой и/или легкой цепи, предпочтительно, чтобы полученная тогда "замененная" последовательность составляет не менее 60%, предпочтительно 65%, даже более предпочтительно 70%, особенно предпочтительно 75%, особенно предпочтительно 80% идентичной "оригинальной" последовательности CDR. Это означает, что она зависит от длины CDR, в какой степени она идентична "замещаемой" последовательности. Например, CDR, содержащий 5 аминокислот, предпочтительно на 80% идентичен своей замещаемой последовательности, чтобы заменить хотя бы одну аминокислоту. Соответственно, CDRs связывающей молекулы могут иметь различную степень идентичности к их замененным последовательностям, например, CDRL1 может иметь 80%, в то время как CDRL3 может иметь 90%.

[0065] Предпочтительные замены (или замены) представляют собой консервативные замены. Однако любая замена (включая неконсервативную замену или одну или несколько из «примерных замен», перечисленных здесь ниже) предусмотрена до тех пор, пока связывающая молекула сохраняет свою способность связываться с антигеном-мишенью и/или ее CDR идентичны затем замещенная последовательность (по меньшей мере 60%, более 65%, более 70%, обычно более 75% или более чем на 80% идентична «исходной» последовательности CDR).

[0066] Неконсервативные замены повлекут за собой замену члена одного класса на другой. Любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании правильной конформации связывающей молекулы, может быть заменен, как правило, серином, для улучшения окислительной стабильности молекулы и предотвращения аберрантного сшивания. И наоборот, цистеиновая связь (и) может быть добавлена к антителу для повышения его стабильности (особенно, когда антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как фрагмент Fv).

[0067] SEQ ID CDR примерных сегментов vL и vH, которые могут использоваться

для образования антигенсвязывающих доменов CAR (например, CAR 2-го поколения, SIR, zSIR, Ab-TCR, Tri- Tас или TFP) настоящего описания, нацеленные на различные антигены, представлены в таблице 4.

[0068] В некоторых вариантах реализации ссылка на антигенсвязывающий модуль (такой как Fab-подобный или Fv-подобный антигенсвязывающий модуль), который специфически связывается с антигеном-мишенью, означает, что антигенсвязывающий модуль связывается с антигеном-мишенью с (а) аффинность, которая по меньшей мере примерно в 10 (например, примерно в 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000 или более) раз превышает аффинность связывания с другими молекулами ; или (b) Kd не более чем примерно 1/10 (например, 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50, 1/75, 1/100, 1/200, 1/300, 1/400, 1/500, 1/750, 1/1000 или меньше), умноженное на Kd для связывания с другими молекулами. Аффинность связывания можно определить методами, известными в данной области, такими как ELISA, анализ клеточной сортировки с активацией флуоресценции (FACS) или анализ радиоиммунопреципитации (RIA). Kd можно определить методами, известными в данной области, такими как анализ поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с использованием, например, инструментов Biacore, или анализ кинетического исключения (KinExA) с использованием, например, инструментов Sapidynе.

[0069] «Рак» и «злокачественный» относятся или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток. Примеры рака включают, но не ограничиваются ими, В-клеточные лимфомы (лимфомы Ходжкина и/или неходжкинские лимфомы), рак яичек, рак легких и лейкоз. Другие злокачественные новообразования и нарушения клеточной пролиферации легко распознаются в данной области. Термины «опухоль» и «рак» используются здесь взаимозаменяемо, например, оба термина охватывают твердые и жидкие, например, диффузные или циркулирующие опухоли. Используемый здесь термин «рак» или «опухоль» включает предраковые, а также злокачественные раковые образования и опухоли.

[0070] «Химиотерапевтические агенты» представляют собой соединения, которые, как известно, могут быть использованы в химиотерапии рака.

[0071] «Химерные антигенные рецепторы» (CAR) являются искусственными Т-клеточными рецепторами, предусмотренными для использования в качестве терапии рака, используя метод, называемый передачей приемных клеток. CARs построены специально для стимулирования активации Т-клеток и пролиферации в ответ на конкретный антиген, к которому ЦАР связывает. Термин "Химерный рецептор антигена" или в качестве альтернативы "CAR" относится к набору полипептидов, как правило, два в простейших воплощениях, которые, когда выражаются в иммунной клетки эффектора, обеспечивает клетку с специфичностью для целевой клетки, как правило, раковые клетки, и с внутриклеточной генерации сигнала. В некоторых воплощениях CAR включает, по крайней мере, внеклеточный антигенный связывающий домен, трансмембранный домен и

цитоплазмический сигнальный домен (также называемый в настоящем как "внутриклеточный сигнальный домен"), включающий функциональный сигнальный домен, полученный из стимулированной молекулы и/или костимуляторной молекулы. В некоторых аспектах набор полипептидов связан друг с другом. С одной стороны, стимуляторная молекула является цепочкой зеты, связанной со комплексом рецепторов Т-клеток. В одном аспекте, цитоплазмический сигнальный домен далее включает в себя один или несколько функциональных сигнальных доменов, полученных из по крайней мере одной молекулы *costimulatory*, как определено ниже. В одном аспекте молекула затратно-регуляторной молекулы выбирается из костимуляторных молекул, описанных в настоящем, например, 4-1BB (т.е. CD137), CD27 и/или CD28. В одном аспекте ЦАР включает в себя дополнительную последовательность лидеров в *amino-terminus* (N-ter) белка синтеза CAR. В одном аспекте CAR далее включает в себя последовательность лидеров в N-термине внеклеточного антигенного связывающего домена, в котором последовательность лидеров факультативно расщепляется от антигенного связывающего домена (например, scFv) во время клеточной обработки и локализации ЦАР к клеточной мембране. Как правило, "CAR-T клетки" используются, которые относятся к Т-клеток, которые были разработаны, чтобы содержать химерг химерг рецептор антигена. Таким образом, Т-лимфоциты, несущие такие ЦАР, обычно называются лимфоцитами CAR-T. Второе поколение CAR ориентации CD19 и в составе CD8 сигнал пептид, антиген связывания домена на основе CD19-AM1 scFv, CD8 шарнир и трансмембрана домена, 4-1BB *costimulatory* домена и CD3z стимулирующий домен представлен SE ID NO: 799. CAR, в котором 4-1BB *costimulatory* домен заменяется другой домен *costimulatory* (например, CD28 или CD27) также упоминается как обычный CAR. Чтобы преодолеть ограничение обычных CARs, несколько альтернативных конструкций или следующего поколения CARs были описаны, в том числе TCR рецепторов синтеза белков или TFP (WO 2016/187349 A1), антитела TCR или AbTCRs (PCT/US2016/058305). Tri-TAC (WO 2015/117229 A1) и синтетические иммунные рецепторы или SIR (US 62/429,597 и PCT/US17/64379). В настоящем случае термин "CAR" или "CARs" также включает в себя новые подходы (т.е. TFP, AbTCR, Tri-Tac, SIR и zSIR и т.д.) к присуждению антигенной специфичности клеткам. Настоящее раскрытие содержит несколько новых антигенных обязательных доменов, которые могут быть использованы для генерации CARs. Хотя это и не описано явно, предполагается, что эти антигенные связывающие домены (ы) (например, scFv, vL, vH, или vHH и т.д.) могут быть использованы для создания обычных ЦАО первого и второго поколения, а также более новых подходов (т.е. TFP, AbTCR, Tri-Tac, SIR и zSIR и т.д.) для присутствия антигенной специфичности на ячейки. Таким образом, фрагменты vL и vH данного антигенного связывающего домена могут быть использованы для создания двойной цепи SIR, двойной цепи Ab-TCR или двойной цепи zSIR, когда эти фрагменты сливаются с двумя постоянными цепями (например, TCR α /b или TCR γ /d), включающими SIR, Ab-TCR или zSIR. Фрагмент vL и vH одного и того же антигенного связывающего домена может быть соединен с помощью гибкого связующего

звена для создания scFv, который, в свою очередь, может быть использован для создания обычного первого или второго generation CAR, TFP или Tri-TAC с использованием методов, известных в искусстве.

[0072] «Оптимизация Кодона» или «контроль за предвзятостью видового кодона» относится к предпочтительному использованию кодона конкретной клетки-хозяина

[0073] Как используется в настоящем документе, «совместное выражение» относится к выражению двух или более генов. Гены могут быть нуклеиновые кислоты кодирования, например, одного белка или химерного белка в качестве одной полипептидной цепи. Например, описанный здесь zSIR может быть закодирован одной полинуклеотидной цепью и синтезирован как единая полипептидная цепь, которая впоследствии расщепляется в различные полипептиды, каждый из которых представляет собой отдельную функциональную единицу. В некоторых воплощениях, где zSIR состоит из двух или более функциональных полипептидных блоков, различные функциональные единицы коэкспрессированы с помощью одной или нескольких полинуклеотидных цепей. В другом воплощении различные полинуклеотидные цепи связаны последовательностями нуклеиновой кислоты, которые кодируются для расщепляющихся связующихся звенья (например, T2A, F2A, P2A, E2A и т.д.). В другом воплощении мотив Ser-Gly-Ser-Gly (SGSG) (SE-ID NO: 86-87 и 4085-86) также добавляется вверх по течению расщепляемых последовательностей связующим звена для повышения эффективности расщепления. Потенциальным недостатком расщепляющихся связующихся является возможность того, что небольшой тег 2A, оставленный в конце N-терминального белка, может повлиять на функцию белка или способствовать антигенности белков. Чтобы преодолеть это, в некоторых воплощениях, место расщепления фурина (RAKR) (SE ID NO: 88-90 и 4087-4089) добавляется вверх по течению мотивов SGSG для облегчения расщепления остаточного пептида 2A после перевода. Полинуклеотиды, кодирующие различные единицы zSIR, могут быть связаны последовательностями IRES (Внутренний рибосомный вход). Кроме того, различные функциональные единицы zSIR кодируются двумя различными полинуклеотидами, которые не связаны через связующим звеном, но вместо этого кодируются, например, двумя различными векторами. Последовательности нуклеиновой кислоты расщепляющихся связующихся звенья предусмотрены в СЭЗ ID NO: 80 к СЭЗ ID NO: 85.

[0074] Будет признано, что белки могут иметь идентичность или гомологию друг к другу и сохранять аналогичные или идентичные функции. Например, раскрытие включает в себя CD3z цепи, которые имеют 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 98,5%, 99% или 99,9% идентичность любой из последовательностей, описанных в настоящем при сохранении биологической активности.

[0075] Термин «костимуляторная молекула» относится к согнату, связывающему партнера на Т-клетке, который конкретно связывается с костимуляторной лигандом, тем самым о посредничестве в стоимостном ответе Т-клеток, таких как, но не ограничиваясь, пролиферацию. Костимуляторные молекулы включают, но не ограничиваются молекулой

I класса MHC, BTLA и рецептором toll ligand, а также OX40, CD27, CD28, CD8, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) и 4-1BB (CD137). Further examples of such costimulatory molecules include CD8, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8alpha, CD8beta, IL2R beta, IL2R гамма, IL7R alpha, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IP0-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, and a ligand that specifically binds with CD83. Костимуляторный внутриклеточный сигнальный домен может быть внутриклеточной частью молекулы затрат. Костимуляторная молекула может быть представлена в следующих белковых семьях: белки рецепторов TNF, иммуноглобулин-как белки, цитокиновые рецепторы, интегрины, сигнализация лимфоцитарных молекул активации (белки SLAM) и активация рецепторов НК-клеток. Примерами таких молекул являются CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFFR, HVEM, ICAM-1, лимфоциты функции связанных антиген-1 (LFA-1), CD2, CD8, CD7, CD287, LIGHT, NKG2C, NKG2D, SLAMF7, NKp80, NKp30, NKp44, NKp46, CD160, B7-H3, и лиганд, который конкретно связывает с CD83, и тому подобное. Внутриклеточный сигнальный домен может состоять из всей внутриклеточной части или всего родного внутриклеточного сигнального домена молекулы, из которой он получен, или функционального фрагмента или его производной.

[0076] Термин «специфический антиген» или «связанный с болезнью антиген» или «болезнь, вызывающая антиген» относится к антигену, выраженному на клетках, которые способствуют развитию болезни.

[0077] Термин «клетка, вызывающая болезни» или «ассоциированная с болезнями клетка» относится к клетке, способствуя которая способствует развитию болезни. Примерные болезни, вызывающие клетки включают раковые клетки и вирусно инфицированных клеток. Не раковые клетки, такие как В-лимфоциты и Т-лимфоциты, были связаны с патогенезом иммунной, аллергии, дегенеративных и инфекционных заболеваний, а также считаются болезни, вызывающие клетки.

[0078] Термин «антиген, поддерживающий болезни» относится к антигену, выраженному на клетках, которые поддерживают выживание, пролиферацию, настойчивость или активность болезней, вызывающих клетки. В некоторых воплощениях, поддерживающий болезнь антиген является антигеном, присутствующим на стромальных клетках. Не желая быть связанными теорией, в некоторых воплощениях клетки, выражающие ЦАР, разрушают болезнетворные клетки, тем самым косвенно блокируя рост или выживание болезней, вызывающих клетки. Примерные стромальные клеточные антигены включают стромальный клеточный антиген костного мозга 2 (BST2), белок

активации фибробластов (FAP) и тенасин.

[0079] Термин «дегенеративные расстройства» относится к заболеванию, которое является результатом непрерывного процесса, основанного на дегенеративных клеточных изменениях, затрагивающих ткани или органы, которые будут все больше ухудшаться с течением времени, будь то из-за нормального износа тела или образа жизни, таких как физические упражнения или привычки в еде. К образцовым дегенеративным заболеваниям относятся болезнь Альцгеймера, болезнь Шарко-Мари-Туба, болезнь Крейтцфельда-Якоба, атаксия Фридрейха, сахарный диабет (тип II) и атеросклероз.

[0080] «Выведенный из» в качестве этого термина, указывает на связь между первой и второй молекулой. Как правило, это относится к структурному сходу между первой молекулой и второй молекулой и не коннотировать или включать процесс или ограничение источника на первую молекулу, которая получена из второй молекулы. Например, в случае антигена связывания домена, который является производным от молекулы антитела, антиген связывания домен сохраняет достаточную структуру антитела, которая имеет необходимую функцию, а именно, способность связываться с антигеном.

[0081] Фраза «болезнь, связанная с выражением целевого антигена» или «связанный с болезнью антиген» включает в себя: но не ограничивается, болезнь, связанная с выражением целевого антигена, как описано в настоящем или состояние, связанное с клетками, которые выражают целевой антиген, как описано в настоящем, включая, например, пролиферативных заболеваний, таких как рак или злокачественные новообразования или предраковых состояний, таких как миелодисплазия, миелодиспластический синдром или до лейкемии; или нераковые связанные показания, связанные с клетками, которые выражают целевой антиген, как описано в настоящем. В одном аспекте, рак, связанный с выражением опухолевых антигенов, как описано в настоящем является гематологическим раком. В другом аспекте, рак, связанный с выражением опухолевого антигена, как описано в настоящем является твердым раком. Дальнейшие заболевания, связанные с выражением опухолевого антигена, описанные в настоящем, включают, но не ограничиваются, нетипичными и/или неклассическими раковыми заболеваниями, злокачественными новообразованиями, предраковыми состояниями или пролиферативными заболеваниями, связанными с выражением опухолевого антигена, как описано в настоящем. Показания, не связанные с раком, связанные с выражением целевого антигена, описанные в настоящем, включают, но не ограничиваются, например, аутоиммунными заболеваниями (например, волчанкой), воспалительными расстройствами (аллергия и астма) и трансплантацией. В некоторых воплощениях целевые антиген-экспрессирующие клетки выражают или в любое время выражают мРНК, кодирующие целевой антиген. В другом воплощении целевые антиген-экспресс-клетки производят целевой антигенный белок (например, дикий тип или мутант), а целевой антигенный белок может присутствовать на нормальном уровне или пониженном уровне. В другом воплощении целевые антиген-экспрессивные клетки в

какой-то момент вырабатывали обнаруживаемые уровни целевого антигенного белка, а впоследствии практически не производили обнаруживаемого целевого антигенного белка.

[0082] «Болезнь, мишенью которого являются генетически модифицированные клетки», используемая в настоящем варианте, включает в себя таргетинг любой клетки, любой способ вовлеченной в любое заболевание генетически модифицированными клетками, которые оттачивают болезнь или целевую ткань или тип клеток, независимо от того, нацелены ли генетически модифицированные клетки на больные клетки или здоровые клетки для осуществления терапевтически полезного результата.

[0083] Термин «Диссоциация постоянная (Kd)» определяется как равновесная константа диссоциации взаимодействия рецептора и лиганда.

[0084] Термин «кодирование» относится к присущему свойству конкретных последовательностей нуклеотидов в полинуклеотиде, такие как ген, кДНК или мРНК, которые служат шаблонами для синтеза других полимеров и макромолекул в биологических процессах, имеющих определенную последовательность нуклеотидов (например, рРНК, тРНК и мРНК) или определенную последовательность аминокислот и биологических свойств, вытекающих из этого. Таким образом, ген, cDNA, или РНК, кодирует белок, если транскрипция и перевод мРНК, соответствующей этому гену, производит белок в клетке или другой биологической системе. И нить кодирования, нуклеотидная последовательность которой идентична последовательности мРНК и обычно приводится в списках последовательностей, так и некодированная нить, используемая в качестве шаблона для транскрипции гена или cDNA, могут быть названы кодированием белка или другого продукта этого гена или cDNA.

[0085] Если не указано иное, «нуклеотидная последовательность, кодирующей аминокислотную последовательность», включает в себя все нуклеотидные последовательности, которые являются вырожденными версиями друг друга и кодируют ту же аминокислотную последовательность. Фраза нуклеотидная последовательность, которая кодирует белок или РНК, может также включать в транс до такой степени, что нуклеотидная последовательность, кодирующей белок, может в какой-то версии содержать интрон (ы).

[0086] Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» используется взаимозаменяемо в настоящем варианте и относится к количеству соединения, формулировки, материала или состава, как описано в настоящем, эффективном для достижения конкретного биологического результата.

[0087] Термин «эндогенный», «родной» или «естественно происходящий» относится к любому материалу из организма, клетки, ткани или системы. Он также относится к гену, белку, нуклеиновой кислоте (например, ДНК, РНК и т.д.) или фрагменту, который является родным для клетки или естественным образом выражается в клетке.

[0088] Термин «экзогенный» относится к любому материалу, введенного или произведенного вне организма, клетки, ткани или системы.

[0089] Термин «выражение» относится к транскрипции и/или переводу определенной нуклеотидной последовательности, движимой промоутером и/или другими нормативными элементами.

[0090] Термин «вектор переноса» относится к составу материи, которая состоит из изолированной нуклеиновой кислоты и которая может быть использована для доставки изолированной нуклеиновой кислоты в внутреннюю часть клетки. Таким образом, термин "вектор передачи" включает в себя автономное репликацию плазмиды или вируса. Этот термин следует также истолковывать для дальнейшего включения неплазмидных и невирусных соединений, которые облегчают передачу нуклеиновой кислоты в клетки, такие как, например, поликлизин соединение, липосома, и тому подобное. Примеры вирусных переносчиков включают, но не ограничиваются аденовирусными переносчиками, адено-ассоциированными переносчиками вирусов, ретровирусными переносчиками, лентивирусными переносчиками и тому подобное.

[0091] Векторы экспрессии включают в себя все известные в искусстве, включая космиды, плазмиды (например, голые или содержащиеся в липосомах) и вирусы (например, лентивирусы, ретровирусы, аденовирусы и адено связанные вирусы), которые включают рекомбинантный полинуклеотид.

[0092] Как и в настоящем случае, «эпитоп» определяется как часть антигена, способного вызвать иммунный ответ, или часть антигена, который связывается с антителом или фрагментом антитела. Эпитопы могут быть белковой последовательностью или подсекментом.

[0093] Термин «вектор выражения» относится к вектору, включающему рекомбинантный полинуклеотид, включающий последовательности контроля выражения, оперативно связанные с нуклеотидной последовательностью, которая должна быть выражена. Векторы экспрессии включают все известные в искусстве, включая космиды, плазмиды (например, голые или содержащиеся в липосомах) и вирусы (например, лентивирусы, ретровирусы, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы), которые включают рекомбинантный полинуклеотид.

[0094] Термин «функциональный полипептидный блок (FPU)», например, zSIR, относится к полипептиду, включающему в себя аминокислотную последовательность сигналов, функционально связанную с антигенной связывающей областью и, например, цепью CD3z. Например, домен связывания антигенов расположен между последовательностью сигнала и цепью CD3z.

[0095] Термин «функциональная часть» используется в ссылке, например, на zSIR относится к любой части или фрагменту полипептида, например, zSIR, какая часть или фрагмент сохраняет биологическую активность желаемой молекулы, например, zSIR, частью которой она является (например, родительский zSIR). Например, функциональные части охватывают те части zSIR, которые сохраняют способность распознавать клетки-мишени, или обнаруживать, лечить или предотвращать болезнь, в той же степени, или в большей степени, как родитель zSIR. Что касается родительского zSIR, то

функциональная часть может состоять, например, около 10%, 25%, 30%, 50%, 68%, 80%, 90%, 95% или более, материнского zSIR.

[0096] «Генетически модифицированные клетки», «перенаправленные клетки», «генетически модифицированные клетки» или «модифицированные клетки», используемые в настоящем материале, относятся к клеткам, которые были модифицированы для выражения ЦАР (например, обычные 2-го поколения CAR, TFP, AbTCR, SIR, Tri-Tac и zSIR), или рекомбинантный TCR. Например, генетически модифицированный Т-лимфоцит, который выражает CAR или zSIR, является генетически модифицированной клеткой.

[0097] Термин «иммунное расстройство» относится к заболеванию, характеризующемуся дисфункцией иммунной системы. Аутоиммунное заболевание является условием, вытекающим из ненормального иммунного ответа на нормальную часть тела. Есть по крайней мере 80 видов аутоиммунных заболеваний.

[0098] «Иммунная клетка-эффектор», как этот термин используется в настоящем документе, относится к клетке, которая участвует в иммунном ответе, например, в продвижении иммунного эффекта. Примерами клеток иммунного эффекта являются Т-клетки, например, альфа/бета-Т-клетки и гамма/дельта Т-клетки, В-клетки и естественные клетки-убийцы Т (NKT).

[0099] «Иммунный рецептор, выражающий клетку», как этот термин используется в настоящем документе, относится к клетке, которая участвует в иммунном ответе, например, в продвижении иммунного эффекта и выражает один или несколько иммунных рецепторов, таких как, например, эндогенный TCR, рекомбинантный TCR или CAR. Примерами иммунных рецепторов, выражающих клетки, являются Т-клетки, например, альфа/бета-Т-клетки и гамма/дельта Т-клетки и клетки NKT.

«Функция иммунного эффектора или иммунный эффекторный ответ», как этот термин [00100] используется в настоящем документе, относится к функции или реакции, например, клетки иммунного эффектора, которая усиливает или способствует иммунной атаке целевой клетки, например, функция иммунного эффектора или ответ относится к свойству Т или НК-клетки, которая способствует убийству или ингибированию роста или распространения, целевой клетки. В случае Т-клеток первичная стимуляция и коstimуляция являются примерами функции иммунного эффекта или реакции.

[00101] Термин «внутриклеточный сигнальный домен», используемый здесь, относится к внутриклеточной сигнальной части молекулы. Внутриклеточный сигнальный домен генерирует сигнал, который способствует, например, иммунной эффекторной функции клетки, содержащей CAR (например, CAR 2-го поколения, TFP, AbTCR, SIR, Tri-TAC и/или zSIR). Примеры иммунной эффекторной функции включают цитолитическую активность и вспомогательную активность, включая секрецию цитокинов. Цепи $TCR\alpha/\beta/\gamma/\delta$ не имеют собственного внутриклеточного сигнального домена, но передают сигнал, связываясь с другими цепями сигнального комплекса TCR (например, CD3z, CD3e, CD3d и CD3g), которые обладают сигнальным доменом. В

другом варианте осуществления внутриклеточный сигнальный домен может содержать первичный внутриклеточный сигнальный домен. Примеры первичных внутриклеточных сигнальных доменов включают домены, происходящие из молекул, ответственных за первичную стимуляцию или антиген-зависимое моделирование. В другом варианте осуществления внутриклеточный сигнальный домен может включать костимулирующий внутриклеточный домен. Примеры костимулирующих внутриклеточных сигнальных доменов включают те, которые происходят из молекул, ответственных за костимулирующие сигналы или антиген-независимую стимуляцию. Например, первичный внутриклеточный сигнальный домен может содержать цитоплазматическую последовательность CD3z, а костимулирующий внутриклеточный сигнальный домен может содержать цитоплазматическую последовательность от корецептора или костимулирующей молекулы, такой как CD28 или 41BB.

[00102] Первичный внутриклеточный сигнальный домен может содержать сигнальный мотив, который известен как иммунорецепторный мотив активации на основе тирозина или ITAM. Примеры ITAM, содержащих первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, включают, но не ограничиваются ими, последовательности, полученные из дзета CD3, общего FeR гамма (FCER1G), Fe гамма RIIa, FeR бета (Fe Epsilon R1b), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12.

[00103] Используемый здесь термин «линкер» (также «линкерный домен» или «линкерная область») относится к олиго или полипептиду, который объединяет два или более доменов или областей CAR (например, CAR 2-го поколения, TFP, AbTCR, SIR и zSIR), раскрытые в данном документе. Линкер может иметь длину от 1 до 500 аминокислот. В некоторых вариантах реализации «линкер» может расщепляться или не расщепляться. Если не указано иное, термин «линкер», используемый здесь, означает нерасщепляемый линкер. Нерасщепляемые линкеры могут состоять из гибких остатков, которые обеспечивают свободу движения соседних белковых доменов относительно друг друга. Неограничивающие примеры таких остатков включают глицин и серин. В некоторых вариантах реализации линкеры включают негибкие остатки. Примерными вариантами линкеров с негибкими линкерами являются EAAAK (SEQ ID NO: 4011), E-спираль (SEQ ID NO: 4009), K-спираль (SEQ ID NO: 4010) или PG4SP (SEQ ID NO: 4007). В других вариантах реализации линкер, соединяющий антигенсвязывающий домен и цепи CD3z zSIR, имеют одинаковую длину. В других вариантах реализации линкер, соединяющий антигенсвязывающий домен и цепи CD3z zSIR, различаются по длине не более чем на 20 аминокислот, обычно не более чем на 10 аминокислот, предпочтительно не более чем на 5 аминокислот, более предпочтительно на не более 2-х аминокислот. В некоторых вариантах реализации линкер, соединяющий антигенсвязывающий домен и цепи CD3z zSIR, имеет идентичный или аналогичный аминокислотный состав. Примерными линкерами с идентичным составом являются PG4SP (SEQ ID NO: 4007) и PG4SP-v2 (SEQ ID NO: 4008). В некоторых вариантах реализации линкеры, соединяющие

антигенсвязывающий домен и цепи CD3z zSIR, представляют собой PG4SP (ДНК SEQ ID NO: 8; PRT SEQ ID NO: 4007) и PG4SP-v2 (ДНК SEQ ID NO: 9; PRT SEQ ID NO: 4008).

[00104] В некоторых вариантах реализации линкеры, соединяющие антигенсвязывающие домены и цепи CD3z zSIR, происходят из антител. В одном варианте осуществления линкер, соединяющий область vL и цепь CD3z zSIR, представляет собой IgCL (ДНК SEQ ID NO: 28; PRT SEQ ID NO: 4027), а линкер, соединяющий область vH и цепь CD3z zSIR, представляет собой IgG1-CH1 (ДНК SEQ ID NO: 29 и PRT SEQ ID NO: 4028). В некоторых вариантах реализации линкер, соединяющий соответствующий антигенсвязывающий домен и цепь CD3z zSIR, представляет собой IgCL (ДНК SEQ ID NO: 28; PRT SEQ ID NO: 4027) и IgG2-0C-CH1 (ДНК SEQ ID NO: 30; PRT SEQ ID NO: 4029). В некоторых вариантах реализации линкер может содержать метку эпитопа. В некоторых вариантах реализации метка эпитопа выбирается из группы, состоящей из метки MYC, метки V5, метки AcV5, StreptagII, метки FLAG или HA. В некоторых вариантах реализации нерасщепляемый линкер имеет длину, достаточную для гарантии того, что два соседних домена не будут стерически мешать друг другу. В одном варианте реализации настоящего изобретения три аминокислотных остатка (Gly-Ser-Gly) добавляются к карбокси-концу линкеров (например, тега Мус или тега V5), которые расположены между антигенсвязывающим доменом и цепями CD3z zSIR. В некоторых вариантах реализации линкеры могут нести дополнительные последовательности, такие как сайты рестрикционных ферментов.

[00105] Термин «гибкий полипептидный линкер», как он используется в, относится к пептидному линкеру, который состоит из аминокислот, таких как, например, остатки глицина и/или серина, используемые по отдельности или в комбинации, для связывания полипептидных цепей вместе (например, вариабельные области тяжелой и вариабельной легкой цепи вместе). В одном варианте осуществления гибкий полипептидный линкер представляет собой линкер Gly/Ser и содержит аминокислотную последовательность (Gly-Gly-Gly-Ser)_n, где n представляет собой положительное целое число, равное или больше 1. Например, n=1, n=2, n=3, n=4, n=5 и n=6, n=7, n=8, n=9 и n=10. В одном варианте гибкие полипептидные линкеры включают, но не ограничиваются ими, (Gly₄Ser)₄ или (Gly₄Ser)₃ (SEQ ID NO: 5). В другом варианте линкеры включают несколько повторов (Gly₂Ser), (GlySer) или (Gly₃Ser). В объем настоящего описания также включены линкеры, описанные в WO2012/138475 (включенном в настоящий документ посредством ссылки).

[00106] Термин «лентивирус» относится к роду семейства Retroviridae. ВИЧ, SIV и FIV - все это примеры лентивирусов.

[00107] Термин «лентивирусный вектор» относится к вектору, полученному, по меньшей мере, из части генома лентивируса, включая, в частности, самоинактивирующийся лентивирусный вектор, предложенный в Milone et al., Mol. Ther. 17 (8): 1453-1464 (2009). Другие примеры лентивирусных векторов, которые могут использоваться в клинике, включают, но не ограничиваются ими, например, технологию доставки генов LENTIVECTOR® от Oxford BioMedica, векторную систему LENTIMAX™

от Lentigen и т.п. Другими примерами лентивирусных векторов являются pLENTI-EF1 α (SEQ ID NO: 129), pLENTI-EF1 α -DWPRE (SEQ ID NO: 130) и pCCLc-MNDU3 (SEQ ID NO: 12639).

[00108] Используемый здесь термин «неприродный антигенсвязывающий домен TCR» относится к связывающему домену, функционально связанному с константной областью TCR или цепью CD3z, которая является химерной и неприродной по отношению к TCR, присутствующей в природе. Другими словами, не встречающийся в природе антигенсвязывающий домен TCR «сконструирован» с использованием методов рекомбинантной молекулярной биологии для функционального связывания с константной цепью TCR или цепью CD3z, и, кроме того, что антигенсвязывающий домен получен или получен из молекулы это отличается от TCR, встречающегося в природе. Антигенсвязывающий домен, который отличается от TCR по природе, включает фрагменты ν H и ν L антитела, фрагменты гуманизированных антител, фрагменты химерных антител, лиганды рецепторов и т.п.

[00109] Термин «операблют связан» относится к функциональной связи или связи между первым компонентом и вторым компонентом таким образом, что каждый компонент может быть функциональным. Например, оперная связь включает в себя связь между нормативной последовательностью и последовательностью гетерологических нуклеиновой кислоты, приводящей к выражению последней. Например, первая последовательность нуклеиновой кислоты операбико связана со второй последовательностью нуклеиновой кислоты, когда первая последовательность нуклеиновой кислоты помещается в функциональные отношения со второй последовательностью нуклеиновой кислоты. В контексте двух полипептидов, которые оперно связаны первые функции полипептида в том, как она будет независима от какой-либо связи и второй полипептид функции, как это будет отсутствовать связь между ними.

[00110] «Процентная идентичность» в контексте двух или более нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей относится к двум или более последовательностям, которые одинаковы. Две последовательности "существенно идентичны", если две последовательности имеют определенный процент аминокислотных остатков или нуклеотидов, которые являются одинаковыми (например, 60% идентичности, по желанию 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичность над указанным регионом, или, если не указано, в течение всей последовательности), при сравнении и выравнивается для максимальной корреспонденции над окном сравнения, или назначенный регион, как измеряется с помощью одного из следующих алгоритмов сравнения последовательности или ручного выравнивания и визуального осмотра. По желанию, идентичность существует над областью, которая составляет по крайней мере около 50 нуклеотидов (или 10 аминокислот) в длину, или более предпочтительно над областью, которая составляет от 100 до 500 или 1000 или более нуклеотидов (или 20, 50, 200 или более аминокислот) в

длину.

[00111] Термин «полинуклеотид», «нуклеевая кислота» или «рекомбинантная нуклеиновая кислота» относится к полимерам нуклеотидов, таким как дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и, при необходимости, рибонуклеиновой кислоте (РНК).

[00112] «Протеин» или «полипептид», термины которого используются взаимозаменяемо в настоящем, состоит из одной или нескольких цепей химических строительных блоков, называемых аминокислотами, которые связаны между собой химическими связями, называемыми пептидными связями, чтобы сформировать полимер аминокислот.

[00113] «Огнеупорный», используемый в настоящем документе, относится к заболеванию, например, раку, которое не реагирует на лечение. В воплощениях огнеупорный рак может быть устойчивым к лечению до или в начале лечения. В других воплощениях огнеупорный рак может стать устойчивым во время лечения. Огнеупорный рак также называют устойчивым раком.

[00114] «Рецидив» в контексте настоящего описания относится к возвращению заболевания (например, рака) или признаков и симптомов заболевания, такого как рак, после периода улучшения, например, после предшествующего лечения терапией, например рака. терапия

[00115] Диапазоны: во всем этом раскрытии различные аспекты изобретения могут быть представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона дано просто для удобства и краткости и не должно рассматриваться как жесткое ограничение объема изобретения.

[00116] Термин «ретровирусный вектор» или «ретровирусный вектор» относится к вектору, полученному, по меньшей мере, из части генома ретровируса. Примеры ретровирусного вектора включают MSCVneo, MSCV-pac (или MSCV-puro), MSCV-hygro, поставляемые Addgene или Clontech. Другим примером ретровирусного вектора является MSCV-Bgl2-AvrII-Bam-EcoR1-Xho-BstB1-Mlu-Sal-ClaI.I03 (SEQ ID NO: 131).

[00117] Термин «транспозон спящей красавицы» или «транспозонный вектор спящей красавицы» относится к вектору, полученному, по меньшей мере, из части генома транспозона спящей красавицы. Примером транспозонного вектора "Спящая красавица" является pSBbi-Pur (SEQ ID NO: 133). Другие примеры транспозонных векторов "Спящей красавицы", кодирующие SIR, представлены в SEQ ID NO: 134 и SEQ ID NO: 135.

[00118] Термин «scFv» относится к слитому белку, содержащему по меньшей мере один фрагмент антитела, содержащий вариабельную область легкой цепи, и по меньшей мере один фрагмент антитела, содержащий вариабельную область тяжелой цепи, где вариабельные области легкой и тяжелой цепи связаны непрерывно, например, через синтетический линкер, например, короткий гибкий полипептидный линкер, и способны экспрессироваться в виде одноцепочечного полипептида, и где scFv сохраняет специфичность интактного антитела, из которого он получен. Если не указано иное, в

контексте настоящего описания scFv может иметь переменные области vL и vH в любом порядке, например, по отношению к N-концевому и C-концевому концам полипептида, scFv может содержать vL-линкер-vH или может содержать vH-линкер-vL. В этом раскрытии scFv также описывается как vL-Gly-Ser-Linker-vH. Например, FMC63-vL-Gly-Ser-Linker-FMC63-vH относится к scFv, содержащему vL и vH фрагменты моноклонального антитела FMC63, связанные через линкер, состоящий из остатков Gly и Ser. В качестве альтернативы scFv также описывается как (vL+vH). Например, FMC6-(vL+vH) относится к scFv, содержащему vL и vH-фрагменты антитела FMC63, связанные через линкер, в котором фрагмент vL расположен на N-конце.

[00119] Термин «сигнальный домен» относится к функциональной области белка, который передает информацию внутри клетки для регулирования клеточной активности посредством определенных сигнальных путей путем создания вторичных мессенджеров или функционирования в качестве эффекторов, отвечая на такие мессенджеры.

[00120] Термин «синтетический иммунный рецептор» или альтернативно «SIR» относится к полипептиду, обычно к двум полипептидам (например, гетеро или гомодимеру) в некоторых вариантах реализации, который при экспрессии в эффекторной клетке обеспечивает клетке специфичность - а мишенью, обычно раковой клеткой, и с генерацией внутриклеточного сигнала. SIR были описаны в PCT/US17/64379. В примерном варианте реализации SIR включает один или несколько антигенсвязывающих доменов (например, антитело или фрагмент антитела, лиганд или рецептор), которые связываются с антигенами или родственными лигандами, как описано в данном документе, и присоединены к одной или нескольким константным цепям или участкам рецепторов Т-клеток через необязательный линкер. В некоторых вариантах реализации наборы полипептидов соседствуют друг с другом. В некоторых вариантах реализации SIR включает два или более набора из двух или более полипептидов. Полипептиды каждого набора SIR примыкают друг к другу (функциональная полипептидная единица 1), но не примыкают к полипептидам другого набора (функциональная полипептидная единица 2). В некоторых аспектах константные цепи (или области) Т-клеточного рецептора SIR выбраны из константы человеческого Т-клеточного рецептора-альфа (TCR-альфа или TCR α , или TCR α , или hTCR-альфа, или hTCR α , или hTCR α или C α), цепь, человеческий рецептор бета1 Т-клеток (TCR-beta1, или TCR β 1, или TCRb1, или hTCR-beta1, или hTCR β 1, или hTCRb1, или C β 1), человеческий рецептор бета 2 TCR (TCR-beta2, или TCR β 2, или TCRb2, или hTCR -beta2, или hTCR β 2, или hTCRb2, или C β 2, также называемые TCR-beta, TCR β , или TCRb, или C β), человеческий рецептор Pre-T-клеток альфа ((preTCR-alpha или preTCR α или preTCR α или preC α), человеческий Т-клеточный рецептор гамма (TCR гамма, или TCR γ , или TCRg, или hTCR гамма, или hTCR γ , или hTCRg, или hTCR γ 1, или hTCRгамма1, или C γ) или дельта-дельта рецептор Т-клеток человека (TCR-дельта, или TCRd, или TCR δ , или hTCR-дельта, или hTCR δ , или hTCR $\delta\delta$, или hTCR δ или C δ) В некоторых вариантах реализации константа TCR цепи SIR кодируется их нуклеотидными последовательностями определенного типа, то есть в

других аспектах кодируются константные цепи SIR TCR нуклеотидными последовательностями, которые не дикого типа. В вариантах реализации изобретения константные цепи SIR TCR кодируются их оптимизированными по кодам последовательностями. В некоторых вариантах реализации константные цепи SIR TCR кодируют полипептидные последовательности дикого типа, в то время как в других вариантах реализации константные цепи SIR TCR кодируются для полипептидов, несущих одну или несколько мутаций. В некоторых вариантах реализации константные цепи SIR TCR кодируются их оптимизированными по кодам последовательностями, которые несут одну или несколько мутаций. SIR, который содержит антигенсвязывающий домен (например, scFv или vHH), нацеленный на специфический продуцент опухоли «X», такой как описанный здесь, также называется X-SIR или XSIR. Например, SIR, который содержит антигенсвязывающий домен, нацеленный на CD19, называется CD19-SIR или CD19SIR. Константная цепочка/домен TCR SIR может происходить от того же вида, который в конечном итоге будет использовать SIR. Например, для использования на людях может быть полезно, чтобы константная цепь SIR TCR происходила из константных цепей TCR человека или состояла из них. Однако в некоторых случаях полезно, чтобы константная цепь TCR происходила от тех же видов, которые в конечном итоге будут использовать SIR, но модифицировать для несения аминокислотных замен, которые усиливают экспрессию константных цепей TCR. Например, для использования у людей может быть полезно, чтобы константная цепь SIR TCR происходила из константных цепей TCR человека или состояла из них, но в которых определенные аминокислоты были заменены соответствующими аминокислотами из константных цепей TCR мыши. . Эти «мышинные» константные цепи TCR обеспечивают повышенную экспрессию SIR. Последовательности нуклеиновых кислот типичных константных цепей TCR показаны в SEQ ID NO: 39-64 (таблица 5). Аминокислотные последовательности типичных константных цепей TCR показаны в SEQ ID NO: 4038-4063 (таблица 5). SIR или функциональной их части, может включать в себя дополнительные аминокислоты в аминокислоты или карбокси конечной, или на обоих termini, которые дополнительные аминокислоты не находятся в аминокислотной последовательности TCR или антиген связывания домена, которые составляют SIR. Желательно, что дополнительные аминокислоты не мешают биологической функции SIR или функциональной части, например, распознают клетки-мишени, обнаруживают рак, лечат или предотвращают рак и т. д. Более желательно, дополнительные аминокислоты повышают биологическую активность, по сравнению с биологической активностью родителя SIR.

[00121] Термин «стимуляция» относится к первичной реакции, индуцированной связыванием стимулирующей молекулы (*например*, комплекса TCR/CD3 или SIR) с ее родственным лигандом (или антигеном-мишенью в случае SIR), таким образом опосредуя событие передачи сигнала, такое как, помимо прочего, передача сигнала через TCR/CD3. Стимуляция может опосредовать измененную экспрессию определенных молекул.

[00122] Термин « слитые белки рецептора TCR или TFP » относится к платформе

CAR следующего поколения, как описано в WO 2016/187349 A1, которая включена в настоящий документ посредством ссылки. В одном из вариантов осуществления TFP включает фрагмент антитела, который специфически связывается с антигеном-мишенью, слитым с цепью TCR, такой как CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α или TCR β . Типичные цепи TCR, которые можно использовать при конструировании TFP, предоставлены в WO 2017/070608 A1, которая включена в настоящий документ посредством ссылки. TFP, включающий цепь CD3 ϵ , называется TFP CD3 ϵ . TFP, включающий цепь CD3 γ , называется TFP CD3 γ . TFP, включающий цепь CD3 δ , называется TFP CD3 δ . TFP, включающий цепи CD3 ϵ , CD3 γ или CD3 δ , в совокупности называется TFP CD3 $\epsilon/\gamma/\delta$. Типичные TFP, содержащие антигенсвязывающий домен BCMA-Am06-HL, нацеленный на BCMA, описанный в этом раскрытии, и коэкспрессирующие вспомогательный модуль, кодирующий NEMO-K277A, представлены в SEQ ID NO: 4384-4387 (Таблица 6). Типичные TFP, включающие различные антигенсвязывающие домены, описанные в этом раскрытии, и коэкспрессирующие вспомогательный модуль, кодирующий NEMO-K277A, представлены в таблице 7. SEQ ID NO, антигенсвязывающие домены и целевые антигены этих TFP могут быть определены, обратившись к таблице 6 поскольку порядок различных конструкций (т. е. класса CAR), перечисленных в таблице 7, такой же, как порядок конструкций (т. е. класса CAR), перечисленных в таблице 6. Вспомогательный модуль, кодирующий NEMO-K277A, является необязательным. TFP с антигенсвязывающими доменами (т.е. фрагментами vL и vH, лигандами и рецепторами и т.д.), описанными в этом раскрытии, можно сконструировать без NEMO-K277A. По существу, этот вспомогательный модуль вместе с вышестоящей последовательностью Furine-SGSG-F2A может быть удален из TFP, представленных SEQ ID NO: 1900-3123. В качестве альтернативы вспомогательный модуль, кодирующий NEMO-K277A, может быть заменен вспомогательными модулями, кодирующими другие сигнальные белки, такие как hNEMO-K277A-дельтаV249-K555, mNEMO-K270A, K13-opt, IKK2-S177E-S181E или IKK1-S176E-S180E. и MyD88 -L265P, FKBPx2-NEMO, NEMO-L600-FKBPx2 и CMV-141 и т. д.

[00123] Термин «стимулирующая молекула» относится к молекуле, экспрессируемой иммунной клеткой (*например*, Т-клеткой, НК-клеткой, В-клеткой), которая обеспечивает цитоплазматическую сигнальную последовательность (последовательности), которые регулируют активацию иммунной клетки в стимулирующем пути по крайней мере для некоторых аспектов сигнального пути иммунных клеток.

[00124] Термин «субъект» предназначен для включения живых организмов, у которых может быть вызван иммунный ответ (*например*, любых домашних млекопитающих или человека).

[00125] Термины «Т-клетка» и «Т-лимфоцит» взаимозаменяемы и используются здесь как синонимы. Примеры включают, но не ограничиваются ими, наивные Т-клетки («предшественники лимфоцитов»), Т-клетки центральной памяти, эффекторные Т-клетки

памяти, стволовые Т-клетки памяти (T_{scm}), резидентные Т-клетки в тканях, α/β Т-клетки, γ/δ Т-клетки, Т-клетки, полученные из ИПСК, синтетические Т-клетки или их комбинации.

[00126] Термин «терапевтический эффект» относится к биологическому эффекту, который может проявляться различными способами, включая, но не ограничиваясь, например, уменьшение объема опухоли, уменьшение количества раковых клеток, уменьшение количества колоний инфекционный агент, облегчающий различные физиологические симптомы, связанные с болезненным состоянием, в первую очередь предотвращающий начало заболевания или предотвращающий рецидив заболевания.

[00127] «Лечение» и «лечение» в контексте настоящего описания относятся как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам. В лечении нуждаются те, у кого уже есть это заболевание, а также те, кто предрасположен к нему, или те, кому необходимо предотвратить это состояние.

[00128] Термин «дзета» (или как определено греческим символом « ζ ») или, альтернативно, «дзета-цепь», «CD3-дзета» или «TCR-дзета» определяется как белок, предоставленный под номером доступа GenBank BAG36664. 1, или эквивалентные остатки от видов, не относящихся к человеку, например, мыши, грызуна, обезьяны, обезьяны и т.п., и «дзета-стимулирующий домен» или, альтернативно, «дзета-стимулирующий домен» или «дзета-стимулирующий домен» домен »определяется как аминокислотные остатки цитоплазматического домена дзета-цепи или их функциональные производные, которые достаточны для функциональной передачи начального сигнала, необходимого для активации Т-клеток. В одном аспекте дзета-цитоплазматический домен содержит остатки 52-164 GenBank Accession No. BAG36664.1 или эквивалентные остатки из нечеловеческих видов, таких как мыши, грызуны, обезьяны, обезьяны и т. д., которые являются их функциональными ортологами. В одном аспекте «дзета-стимулирующий домен» или « дзета-стимулирующий домен »представляет собой последовательность, показанную как ДНК SEQ ID NO: 101 и PRT SEQ ID NO: 4100.

[00129] В настоящем документе представлены композиции, содержащие CAR и необязательно один или несколько дополнительных модулей, а также способ их использования для лечения заболеваний, включая рак. Как описано в этом документе, определенные комбинации CAR (Таблица 1) и дополнительных модулей, как описано в Таблице 2, определяют «Остовов» (Таблица 2).

[00130] Таблица 1: Архитектуры автомобилей. CAR первого поколения (обычный CAR1 или CAR I) имеют антигенспецифический домен (ASD), внутриклеточный сигнальный домен (ISD) (например, CD3z) и не имеют костимулирующего домена. Слитые белки TCR (TFP) представляют собой CAR следующего поколения, которые описаны в WO 2016/187349 A1, но напоминают обычный CAR1 тем, что имеют антигенспецифический домен (ASD) и внутриклеточный сигнальный домен. CAR второго поколения (обычный CAR 2 или CAR II) имеют антигенспецифический домен (ASD), один костимулирующий домен (например, 41BB или CD28) и внутриклеточный

сигнальный домен (ISD) (например, CD3z). CAR третьего поколения (обычный CAR 3 или CAR III) имеют антигенспецифический домен (ASD), два костимулирующих домена (например, 41BB и CD28) и внутриклеточный сигнальный домен (ISD) (например, CD3z). AbTCR представляют собой двухцепочечные рецепторы и описаны в PCT/US2016/058305. сTCR представляют собой одноцепочечные, полуторные или двухцепочечные рецепторы, состоящие из антигенсвязывающего домена, полученного из фрагментов vL и vH, которые слиты с константной цепи TCR и приводят к активации передачи сигналов Т-лимфоцитов. Синтетические иммунные рецепторы представляют собой сTCR следующего поколения и описаны в US 62/429,597 и PCT/US017/064379. SIR могут быть одноцепочечными, полу- или двухцепочечными рецепторами, состоящими из одного или нескольких антигенсвязывающих доменов, которые слиты с одним или более константных цепей TCR и приводят к активации передачи сигналов Т-лимфоцитами при связывании лиганда. zSIR описаны в этом приложении.

[00131] zSIR представляют собой новую платформу синтетических иммунных рецепторов (SIR), содержащих две цепи CD3-зета (CD3z). Последовательности нуклеиновых кислот и аминокислот цепей CD3z, которые можно использовать при конструировании zSIR, представлены в SEQ ID NO: 67 и 71 ДНК и SEQ ID NO: 4066 и 4072. В описании указано, что vL-фрагмент антитела может быть присоединено к одной из двух цепей CD3z, а фрагмент vH может быть присоединен к другой цепи CD3z. Когда две такие цепи (например, vL-CD3z и vH-CD3z) совместно экспрессируются в одной и той же клетке, фрагменты vL и vH могут связываться вместе, распознавать свой родственный антиген или партнера по связыванию и передавать сигнал Т-клетки. В частности, Т-клетки, экспрессирующие такой zSIR, при воздействии на линию клеток, экспрессирующих целевой антиген, могут активировать передачу сигналов NFAT, индуцировать продукцию IL2 и проявлять цитотоксичность. Экспрессия и активность zSIR могут быть дополнительно увеличены путем включения линкера между vL/vH и фрагментами CD3z. В частности, домены IgCL и IgCH, полученные из антител, служат полезными линкерами между фрагментами vL/vH и CD3z. Типичные линкеры, которые можно использовать при конструировании zSIR, представлены в SEQ ID NO: 4004-4037 (таблица 5). На Фигуре 1 представлены схематические примеры zSIR, предусмотренных раскрытием.

[00132] Например, zSIR1, фрагмент vL scFV присоединен к одному CD3z-ECD-TM-CP (внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический домен), а фрагмент vH присоединен ко второму CD3zECDTMCP. Примерный zSIR1 представлен в SEQ ID NO: 425. В zSIR2 один ASD (например, фрагмент scFV) присоединен к одному CD3zECDTMCP (внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический домен), а второй ASD присоединен ко второму CD3zECDTMCP. Примерный zIR2 представлен в SEQ ID NO: 3961. Два ASD могут нацеливаться на один и тот же или разные антигены или разные эпитопы одного и того же антигена. Примерный zSIR2, в котором два ASD нацелены на два разных антигена, представлен в SEQ ID NO: 3962. Примерный zSIR2, в

котором два ASD нацелены на два эпитопа одних и тех же антигенов, представлен в SEQ ID NO: 3961. В zSIR3 vL Фрагмент scFV соединен с одним CD3zECDTMCP (внеклеточным, трансмембранным и цитоплазматическим доменом) через линкер cL (SEQ ID NO: 28 и 4027), полученный из иммуноглобулина, а фрагмент vH присоединен ко второму CD3zECDTMCP через линкер CH1 (SEQ ID №№ 29 и 4028). Примером zSIR3 является CD8-hCD19-EUK5-13-vL-IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-hCD19-EUK5-13-vH-IgG1-CH1-KPN-CD3zECDTMCP-opt2- F-F2A-Xba-PAC (SEQ ID NO: 3955). Другие линкеры, которые можно использовать при построении zSIR, перечислены в таблице 5.

[00133] В другом варианте реализации костимулирующий домен также включен в цепь (и) CD3z zSIR. Примеры костимулирующих доменов включают костимулирующие домены 41BB (SEQ ID NO: 69 и SEQ ID NO: 4068) и CD28 (SEQ ID NO: 69 и SEQ ID NO: 4067). Цепи CD3z, содержащие костимулирующие домены 41BB (BB) (см. Схему «C» выше) и CD28 (см. Схему «D» выше), представлены в SEQ ID NO (ДНК): 76-79 и SEQ ID NO: (PRT): 4075-4078. Примерный zSIR с CD3z, содержащим костимулирующие домены CD28, представлен CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL- [CD3zECDTM-28z-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH- [CD3zECDTM-28z-opt2] (SEQ ID NO (ДНК): 3971 и (SEQ ID NO (PRT): 7971). Примерный zSIR с CD3z, содержащим костимулирующие домены 41BB, представлен CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL- [CD3zECDTM-BBz-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH- [CD3zECDTM-BBz-opt2] (SEQ ID NO (ДНК): 3972 и (SEQ ID NO (PRT): 7972). ZSIR 4-9 напоминают zSIR 1-3, за исключением замены CD3zECDTMCP на CD3zECDTM-BBz или на домены CD3zECDTM-28z.

[00134] Таблица 1

Таблица 1 Примерные CAR							
CAR 1	CAR 1 или CAR I (включая TFP)	ASD	HR	TMD	ISD		
CAR 2	CAR 2 (CAR II)	ASD	HR	TMD	CSD	ISD	
CAR 3	CAR 3 (CAR III)	ASD	HR	TMD	CSD-I	CSD-II	ISD
CAR 4	AbTCR	vL-cL	TCRD (I)	2A	vH-CH1	TCRD (II)	
CAR 5	Двойная цепь cTCR/SIR	vL	TCR- C (I)	2A	vH	TCR-C (II)	
CAR 6	Одна и половина цепи cTCR/SIR		TCR- C (I)	2A	ASD	TCR-C (II)	
CAR 7	zSIR 1	vL	CD3zECDTMC P	2A	vH	CD3zECDTMC P	
CAR 8	zSIR 2	ASD	CD3zECDTMC P	2A	ASD	CD3zECDTMC P	

CAR 9	zSIR 3	vL-cL	CD3zECDTMC P	2A	vH-CH1	CD3zECDTMC P	
CAR 10	zSIR 4	vL	CD3zECDTM-BBz	2A	vH	CD3zECDTM-BBz	
CAR 11	zSIR 5	vL	CD3zECDTM-28z	2A	vH	CD3zECDTM-28z	
CAR 12	zSIR 6	ASD	CD3zECDTM-BBz	2A	ASD	CD3zECDTM-BBz	
CAR 13	zSIR 7	ASD	CD3zECDTM-28z	2A	ASD	CD3zECDTM-28z	
CAR 14	zSIR 8	vL-cL	CD3zECDTM-BBz	2A	vH-CH1	CD3zECDTM-BBz	
CAR 15	zSIR 9	vL-cL	CD3zECDTM-28z	2A	vH-CH1	CD3zECDTM-28z	

[00135] Таблица 2: Примерные остонов

Остовов	Компонент CAR	Вспомогательный модуль		
		ИМЯ	SEQ ID (ДНК)	SEQ ID (PRT)
Остовов 1	CAR I	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 2	CAR I	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 3	CAR I	tBCMA	97	4096
Остовов 4	CAR I	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 5	CAR II	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 6	CAR II	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 7	CAR II	tBCMA	97	4096
Остовов 8	CAR II	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 9	CAR III	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 10	CAR III	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 11	CAR III	tBCMA	97	4096
Остовов 12	CAR III	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 13	AbTCR	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 14	AbTCR	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 15	AbTCR	tBCMA	97	4096
Остовов 16	AbTCR	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 17	DC- cTCR/SIR	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 18	DC- cTCR/SIR	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 19	DC- cTCR/SIR	tBCMA	97	4096
Остовов 20	DC- cTCR/SIR	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 21	OHC- cTCR/SIR	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 22	OHC- cTCR/SIR	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 23	OHC- cTCR/SIR	tBCMA	97	4096
Остовов 24	OHC- cTCR/SIR	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 25	zSIR1	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 26	zSIR1	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 27	zSIR1	tBCMA	97	4096
Остовов 28	zSIR1	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 29	zSIR2	K13-vFLIP	108	4107

Остовов 30	zSIR2	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 31	zSIR2	tBCMA	97	4096
Остовов 32	zSIR2	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 33	zSIR3	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 34	zSIR3	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 35	zSIR3	tBCMA	97	4096
Остовов 36	zSIR3	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 37	zSIR4	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 38	zSIR4	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 39	zSIR4	tBCMA	97	4096
Остовов 40	zSIR4	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 41	zSIR5	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 42	zSIR5	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 43	zSIR5	tBCMA	97	4096
Остовов 44	zSIR5	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 45	zSIR6	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 46	zSIR6	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 47	zSIR6	tBCMA	97	4096
Остовов 48	zSIR6	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 49	zSIR7	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 50	zSIR7	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 51	zSIR7	tBCMA	97	4096
Остовов 52	zSIR7	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 53	zSIR8	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 54	zSIR8	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 55	zSIR8	tBCMA	97	4096
Остовов 56	zSIR8	ВИЧ-1 Vif	118	4117
Остовов 57	zSIR9	K13-vFLIP	108	4107
Остовов 58	zSIR9	FKBPX2-K13	113	4112
Остовов 59	zSIR9	tBCMA	97	4096
Остовов 60	zSIR9	ВИЧ-1 Vif	118	4117

[00136] ТАБЛИЦА 3: Список последовательностей фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на различные антигены, которые используются при конструировании CAR

Антиген-мишень	Антигенсвязывающий домен	vL		vH		scFv	
		ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID
BCMA	BCMA-Am14-HL	155	4118	229	4192	303	4266
BCMA	BCMA-Am08-HL	156	4119	230	4193	304	4267
BCMA	BCMA-Am06-HL	157	4120	231	4194	305	4268
CD19	hu-CAT18-1-HL	158	4121	232	4195	306	4269
CD19	CAT17-HL	159	4122	233	4196	307	4270

		vL		vH		scFv	
Антиген-мишень	Антигенсвязывающий домен	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID
CD22	hu-HA22-1	160	4123	234	4197	308	4271
CD19	CD19-DART1	161	4124	235	4198	309	4272
CD20	hu-Ubli-1-v4	162	4125	236	4199	310	4273
Интегрин B7	hu-IntB7-MMG49	163	4126	237	4200	311	4274
BCMA	BCMA-BB-CAR02	164	4127	238	4201	312	4275
Her2	Her 2-169	165	4128	239	4202	313	4276
Her2	Her2-XMT-1520	166	4129	240	4203	314	4277
Her2	Her2-XMT-1518	167	4130	241	4204	315	4278
Her2	Her2-huMab4D5-D98W	168	4131	242	4205	316	4279
TSHR	TSHR-hu-3BD10	169	4132	243	4206	317	4280
PSMA	PSMA-83A12-HL-AM	170	4133	244	4207	318	4281
PSMA	PSMA-76-HL-AM	171	4134	245	4208	319	4282
PSMA	hu106mPSMA-4-HL	172	4135	246	4209	320	4283
MSLN	MSLN-3-HL-AM	173	4136	247	4210	321	4284
MSLN	MSLN-5-HL	174	4137	248	4211	322	4285
EGFRviii	EGFRviii-2-AM-HL	175	4138	249	4212	323	4286
EGFRviii	EGFRviii-H2M1863N2-HL	176	4139	250	4213	324	4287
EGFRviii	EGFRviii-H2M1915N-HL	177	4140	251	4214	325	4288
EGFRviii	EGFRviii-131-2	178	4141	252	4215	326	4289
DLL3	DLL3-AM6-HL	179	4142	253	4216	327	4290
DLL3	DLL3-AM14-HL	180	4143	254	4217	328	4291
Нектин4	Нектин4-66-HL	181	4144	255	4218	329	4292
MSLN	MSLN-237-HL	182	4145	256	4219	330	4293
MSLN	MSLN-HuAM15	183	4146	257	4220	331	4294

		vL		vH		scFv	
Антиген-мишень	Антигенсвязывающий домен	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID
MSLN	MSLN76923-HL	184	4147	258	4221	332	4295
Рецептор пролактина	PRLR-CN	185	4148	259	4222	333	4296
Muc17	Muc17-11-CN	186	4149	260	4223	334	4297
CD19	CD19-AM1	187	4150	261	4224	335	4298
CD19	CD19-9B7	188	4151	262	4225	336	4299
CD20	CD20-HL	189	4152	263	4226	337	4300
CD70	CD70-HL-AM13	190	4153	264	4227	338	4301
CDH19	CDH19-USC1-HLv4	191	4154	265	4228	339	4302
CDH19	CDH19-USC2-HL	192	4155	266	4229	340	4303
CD16ORF54	C16ORF54-USC1-v4	193	4156	267	4230	341	4304
ВИСТА	huVISTA-USC1-v4	194	4157	268	4231	342	4305
ВИСТА	huVISTA-JJ-USC2-v4	195	4158	269	4232	343	4306
GPC3	GPC3-USC1-HL-V4	196	4159	270	4233	344	4307
GPC3	GPC3-USC2-HL-V4	197	4160	271	4234	345	4308
PRLR	PRLR-USC2-HL-V4	198	4161	272	4235	346	4309
Muc5Ac	Muc5Ac-USC1-HL-V4	199	4162	273	4236	347	4310
FCRH5	FCRH5-USC1-HL-V4	200	4163	274	4237	348	4311
LYPD1	LYPD1-HL-V4	201	4164	275	4238	349	4312
EMR2	EMR2-USC1-V4	202	4165	276	4239	350	4313
EMR2	EMR2-USC2-V4	203	4166	277	4240	351	4314
EMR2	mEMR2-USC3-V4	204	4167	278	4241	352	4315
gpNMB	m-gPNMB-USC1-HL-v4	205	4168	279	4242	353	4316
RNF43	RNF43-USC1-HL4	206	4169	280	4243	354	4317
RNF43	RNF43-USC2-HL4	207	4170	281	4244	355	4318
CD44v6	CD44v6-USC1-HL4	208	4171	282	4245	356	4319

		vL		vH		scFv	
Антиген-мишень	Антигенсвязывающий домен	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID
Робо4	Robo4-USC1	209	4172	283	4246	357	4320
CEA	CEA-USC1-HL4	210	4173	284	4247	358	4321
Ee3	Her3-USC1-HL4	211	4174	285	4248	359	4322
FOLR1	FOLR1-USC1-HL4	212	4175	286	4249	360	4323
FOLR1	FOLR1-USC2-HL4	213	4176	287	4250	361	4324
CLDN6	CLDN6-USC1-LH4	214	4177	288	4251	362	4325
CLDN6	CLDN6-USC2-LH4	215	4178	289	4252	363	4326
MMP16	hMMP16-USC1-LH4	216	4179	290	4253	364	4327
UPK1B	hUPK1B-USC1-LH4	217	4180	291	4254	365	4328
UPK1B	hUPK1B-USC2-LH4	218	4181	292	4255	366	4329
BMPR1B	hBMPR1B-USC1-LH4	219	4182	293	4256	367	4330
BMPR1B	hBMPR1B-USC2-LH4	220	4183	294	4257	368	4331
Ly6E	Ly6E-USC1-HL4	221	4184	295	4258	369	4332
STEAP1	STEAP1-USC1-HL4	222	4185	296	4259	370	4333
CD79b	CD79b-USC1-LH4	223	4186	297	4260	371	4334
WISP1	hu-UISP1-USC1-LH4	224	4187	298	4261	372	4335
WISP1	hu-UISP1-USC2-LH4	225	4188	299	4262	373	4336
SLC34A2	huMX35-LH4	226	4189	300	4263	374	4337
CD19	hu-CD19-USC1-LH4	227	4190	301	4264	375	4338
CD22	CD22-HA22	8000	9631	8031	9662	8062	9693
STEAP1	STEAP1-hu120	8001	9632	8032	9663	8063	9694
Liv1	hLiv1-mAb2	8002	9633	8033	9664	8064	9695
Нектин4	hu-нектин4-mAt1	8003	9634	8034	9665	8065	9696
Cripto	hu-Cripto-L1H2	8004	9635	8035	9666	8066	9697
gpA33	hu-gpA33	8005	9636	8036	9667	8067	9698
ROR1	ROR1-	8006	9637	8037	9668	8068	9699

		vL		vH		scFv	
Антиген-мишень	Антигенсвязывающий домен	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID
	DART4						
BCMA	BCMA-FS	8007	9638	8038	9669	8069	9700
BCMA	BCMA-PC	8008	9639	8039	9670	8070	9701
BCMA	BCMA-AJ	8009	9640	8040	9671	8071	9702
BCMA	BCMA-NM	8010	9641	8041	9672	8072	9703
BCMA	BCMA-TS	8011	9642	8042	9673	8073	9704
BCMA	BCMA-PP	8012	9643	8043	9674	8074	9705
BCMA	BCMA-RD	8013	9644	8044	9675	8075	9706
BCMA	BCMA-BB-CAR02	8014	9645	8045	9676	8076	9707
CLL1	CLL1-24C8	8015	9646	8046	9677	8077	9708
CLL1	CLL1-24C1	8016	9647	8047	9678	8078	9709
FLT3	FLT3-10E3	8017	9648	8048	9679	8079	9710
FLT3	FLT3-8B5	8018	9649	8049	9680	8080	9711
IL1RAP	IL1RAP-IAPB57	8019	9650	8050	9681	8081	9712
IL1RAP	IL1RAP-IAPB63	8020	9651	8051	9682	8082	9713
IL1RAP	hu-IL1RAP-CANO4	8021	9652	8052	9683	8083	9714
MSLN	MSLN-7D9-v3	8022	9653	8053	9684	8084	9715
MSLN	MSLN-hu22A10	8023	9654	8054	9685	8085	9716
CD19	hu-Bu13	8024	9655	8055	9686	8086	9717
BST1	hu-BST1-A1	8025	9656	8056	9687	8087	9718
BST1	hu-BST1-A2	8026	9657	8057	9688	8088	9719
BST1	hu-BST1-A3	8027	9658	8058	9689	8089	9720
Her2	Her2-XMT-1519	8028	9659	8059	9690	8090	9721
Her2	Her2-XMT-1517	8029	9660	8060	9691	8091	9722
CD133	CD133-RW03	11300	11460	11304	11464	11308	11468
CD133	CD133-W6B3H10	11301	11461	11305	11465	11309	11469
CD133	CD133-293AC1C3B9	11302	11462	11306	11466	11310	11470
IL113Ra2	hu-IL13Ra2-mAb47	12642	14386	12673	14417	12704	14448
CD22	CD22-INO	12643	14387	12674	14418	12705	14449
CD22	CD22-CELL4	12644	14388	12675	14419	12706	14450

		vL		vH		scFv	
Антиген-мишень	Антигенсвязывающий домен	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID
CD22	CD22-CELL13	12645	14389	12676	14420	12707	14451
CD22	CD22-CELL7	12646	14390	12677	14421	12708	14452
CD22	CD22-VM1011	12647	14391	12678	14422	12709	14453
CD22	CD22-RAB-4120	12648	14392	12679	14423	12710	14454
CD22	CD22-Med-12C5-HL	12649	14393	12680	14424	12711	14455
CD22	CD22-Med-19A3	12650	14394	12681	14425	12712	14456
CD22	CD22-Med-16F7	12651	14395	12682	14426	12713	14457
CD22	hu-RFB4	12652	14396	12683	14427	12714	14458
BCMA	BCMA-mJ22-9	12653	14397	12684	14428	12715	14459
BCMA	BCMA-huJ22-10	12654	14398	12685	14429	12716	14460
CD22	CD22-hu-HA22-2	12655	14399	12686	14430	12717	14461
CD19	huCD19-USC3	12656	14400	12687	14431	12718	14462
CD22	BCMA-hu72	12657	14401	12688	14432	12719	14463
MPL	hu-161-3	12658	14402	12689	14433	12720	14464
BAFF-R	hu-BAFFR-USC90	12659	14403	12690	14434	12721	14465
BAFF-R	hu-BAFFR-USC55	12660	14404	12691	14435	12722	14466
BAFF-R	hu-BAFFR-MOR6654	12661	14405	12692	14436	12723	14467
CD19	CD19-hu-mROO5-1	12662	14406	12693	14437	12724	14468
CD22	CD22-h10F4v2	12663	14407	12694	14438	12725	14469
CD22	CD22-HA22	12664	14408	12695	14439	12726	14470
MPL	hu-161-2	12665	14409	12696	14440	12727	14471
MSLN	MSLN-hu22A10	12666	14410	12697	14441	12728	14472
MSLN	MSLN-7D9-HL	12667	14411	12698	14442	12729	14473
MSLN	MSLN-5	12668	14412	12699	14443	1273	1447

Антиген-мишень	Антигенсвязывающий домен	vL		vH		scFv	
		ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID
						0	4
BCMA	BCMA-huC13-F12	12669	14413	12700	14444	12731	14475
BCMA	BCMA-huC12A3-L3H3	12670	14414	12701	14445	12732	14476
BCMA	BCMA-J6M0	12671	14415	12702	14446	12733	14477

[00137] Таблица 4: Последовательность перечисления различных CDRs vL и vH регионов, принадлежащих к различным антиген обязательным доменам ориентации различных антигенов

Антиген-мишень	Антигенсвязывающий домен	vL-CDR1	vL-CDR2	vL-CDR3	vH-CDR1	vH-CDR2	vH-CDR3
BCMA	BCMA-Am14-HL	11961	12068	12175	12282	12389	12497
BCMA	BCMA-Am08-HL	11962	12069	12176	12283	12390	12498
BCMA	BCMA-Am06-HL	11963	12070	12177	12284	12391	12499
CD19	hu-CAT18-1-HL	11964	12071	12178	12285	12392	12500
CD19	CAT17-HL	11965	12072	12179	12286	12393	12501
CD22	hu-HA22-1	11966	12073	12180	12287	12394	12502
CD19	CD19-DART1	11967	12074	12181	12288	12395	12503
CD20	hu-Ubli-1-v4	11968	12075	12182	12289	12396	12504
Интегрин B7	hu-IntB7-MMG49	11969	12076	12183	12290	12397	12505
BCMA	BCMA-BB-CAR02	11970	12077	12184	12291	12398	12506
Her2	HerE2-169	11971	12078	12185	12292	12399	12507
Her2	Her2-XMT-1520	11972	12079	12186	12293	12400	12508
Her2	Her2-XMT-1518	11973	12080	12187	12294	12401	12509
Her2	Her2-huMab4D5-D98W	11974	12081	12188	12295	12402	12510
TSHR	TSHR-hu-3BD10	11975	12082	12189	12296	12403	12511
PSMA	PSMA-83A12-HL-AM	11976	12083	12190	12297	12404	12512
PSMA	ПСМА-76-XJI-AM	11977	12084	12191	12298	12405	12513
PSMA	hu106mPSMA-4-HL	11978	12085	12192	12299	12406	12514
MSLN	MSLN-3-HL-AM	11979	12086	12193	12300	12407	12515
MSLN	MSLN-5-HL	11980	12087	12194	12301	12408	12516

EGFRviii	EGFRviii-2-AM-HL	11981	12088	12195	12302	12409	12517
EGFRviii	EGFRviii-H2M1863N2-HL	11982	12089	12196	12303	12410	12518
EGFRviii	EGFRviii-H2M1915N-HL	11983	12090	12197	12304	12411	12519
EGFRviii	EGFRviii-131-2	11984	12091	12198	12305	12412	12520
DLL3	DLL3-AM6-HL	11985	12092	12199	12306	12413	12521
DLL3	DLL3-AM14-HL	11986	12093	12200	12307	12414	12522
Нектин4	Нектин4-66-HL	11987	12094	12201	12308	12415	12523
MSLN	MSLN-237-HL	11988	12095	12202	12309	12416	12524
MSLN	MSLN-HuAM15	11989	12096	12203	12310	12417	12525
MSLN	MSLN76923-HL	11990	12097	12204	12311	12418	12526
Рецептор пролактина	PRLR-CN	11991	12098	12205	12312	12419	12527
Muc17	Muc17-11-CN	11992	12099	12206	12313	12420	12528
CD19	CD19-AM1	11993	12100	12207	12314	12421	12529
CD19	CD19-9B7	11994	12101	12208	12315	12422	12530
CD20	CD20-HL	11995	12102	12209	12316	12423	12531
CD70	CD70-HL-AM13	11996	12103	12210	12317	12424	12532
CDH19	CDH19-USC1-HLv4	11997	12104	12211	12318	12425	12533
CDH19	CDH19-USC2-HL	11998	12105	12212	12319	12426	12534
CD16ORF54	C16ORF54-USC1-v4	11999	12106	12213	12320	12427	12535
ВИСТА	huVISTA-USC1-v4	12000	12107	12214	12321	12428	12536
ВИСТА	huVISTA-JJ-USC2-v4	12001	12108	12215	12322	12429	12537
GPC3	GPC3-USC1-HL-V4	12002	12109	12216	12323	12430	12538
GPC3	GPC3-USC2-HL-V4	12003	12110	12217	12324	12431	12539
PRLR	PRLR-USC2-HL-V4	12004	12111	12218	12325	12432	12540
Muc5Ac	Muc5Ac-USC1-HL-V4	12005	12112	12219	12326	12433	12541
FCRH5	FCRH5-USC1-HL-V4	12006	12113	12220	12327	12434	12542
LYPD1	LYPD1-HL-V4	12007	12114	12221	12328	12435	12543
EMR2	EMR2-USC1-V4	12008	12115	12222	12329	12436	12544
EMR2	EMR2-USC2-V4	12009	12116	12223	12330	12437	12545
EMR2	mEMR2-USC3-V4	12010	12117	12224	12331	12438	12546
gpNMB	m-gPNMB-USC1-HL-v4	12011	12118	12225	12332	12439	12547
RNF43	RNF43-USC1-HL4	12012	12119	12226	12333	12440	12548

RNF43	RNF43-USC2-HL4	12013	12120	12227	12334	12441	12549
CD44v6	CD44v6-USC1-HL4	12014	12121	12228	12335	12442	12550
Робо4	Robo4-USC1	12015	12122	12229	12336	12443	12551
CEA	CEA-USC1-HL4	12016	12123	12230	12337	12444	12552
Ee3	Her3-USC1-HL4	12017	12124	12231	12338	12445	12553
FOLR1	FOLR1-USC1-HL4	12018	12125	12232	12339	12446	12554
FOLR1	FOLR1-USC2-HL4	12019	12126	12233	12340	12447	12555
CLDN6	CLDN6-USC1-LH4	12020	12127	12234	12341	12448	12556
CLDN6	CLDN6-USC2-LH4	12021	12128	12235	12342	12449	12557
MMP16	hMMP16-USC1-LH4	12022	12129	12236	12343	12450	12558
UPK1B	hUPK1B-USC1-LH4	12023	12130	12237	12344	12451	12559
UPK1B	hUPK1B-USC2-LH4	12024	12131	12238	12345	12452	12560
BMPR1B	hBMPR1B-USC1-LH4	12025	12132	12239	12346	12453	12561
BMPR1B	hBMPR1B-USC2-LH4	12026	12133	12240	12347	12454	12562
Ly6E	Ly6E-USC1-HL4	12027	12134	12241	12348	12455	12563
STEAP1	STEAP1-USC1-HL4	12028	12135	12242	12349	12456	12564
CD79b	CD79b-USC1-LH4	12029	12136	12243	12350	12457	12565
WISP1	hu-UISP1-USC1-LH4	12030	12137	12244	12351	12458	12566
WISP1	hu-UISP1-USC2-LH4	12031	12138	12245	12352	12459	12567
SLC34A2	huMX35-LH4	12032	12139	12246	12353	12460	12568
CD19	hu-CD19-USC1-LH4	12033	12140	12247	12354	12461	12569
CD22	CD22-HA22	12034	12141	12248	12355	12462	12570
STEAP1	STEAP1-hu120	12035	12142	12249	12356	12463	12571
Liv1	hLiv1-mAb2	12036	12143	12250	12357	12464	12572
Нектин4	hu-нектин4-mAb1	12037	12144	12251	12358	12465	12573
Cripto	hu-Cripto-L1H2	12038	12145	12252	12359	12466	12574
gpA33	hu-gpA33	12039	12146	12253	12360	12467	12575
ROR1	ROR1-DART4	12040	12147	12254	12361	12468	12576
BCMA	BCMA-FS	12041	12148	12255	12362	12469	12577
BCMA	BCMA-PC	12042	12149	12256	12363	12470	12578
BCMA	BCMA-AJ	12043	12150	12257	12364	12471	12579
BCMA	BCMA-NM	12044	12151	12258	12365	12472	12580

BCMA	BCMA-TS	12045	12152	12259	12366	12473	12581
BCMA	BCMA-PP	12046	12153	12260	12367	12474	12582
BCMA	BCMA-RD	12047	12154	12261	12368	12475	12583
BCMA	BCMA-BB-CAR02	12048	12155	12262	12369	12476	12584
CLL1	CLL1-24C8	12049	12156	12263	12370	12477	12585
CLL1	CLL1-24C1	12050	12157	12264	12371	12478	12586
FLT3	FLT3-10E3	12051	12158	12265	12372	12479	12587
FLT3	FLT3-8B5	12052	12159	12266	12373	12480	12588
IL1RAP	IL1RAP-IAPB57	12053	12160	12267	12374	12481	12589
IL1RAP	IL1RAP-IAPB63	12054	12161	12268	12375	12482	12590
IL1RAP	hu-IL1RAP-CANO4	12055	12162	12269	12376	12483	12591
MSLN	MSLN-7D9-v3	12056	12163	12270	12377	12484	12592
MSLN	MSLN-hu22A10	12057	12164	12271	12378	12485	12593
CD19	hu-Bu13	12058	12165	12272	12379	12486	12594
BST1	hu-BST1-A1	12059	12166	12273	12380	12487	12595
BST1	hu-BST1-A2	12060	12167	12274	12381	12488	12596
BST1	hu-BST1-A3	12061	12168	12275	12382	12489	12597
Her2	Her2-XMT-1519	12062	12169	12276	12383	12490	12598
Her2	Her2-XMT-1517	12063	12170	12277	12384	12491	12599
CD133	CD133-RW03	12064	12171	12278	12385	12492	12600
CD133	CD133-W6B3H10	12065	12172	12279	12386	12493	12601
CD133	CD133-293AC1C3B9	12066	12173	12280	12387	12494	12602
IL113Ra2	hu-IL13Ra2-mAb47	16126	16157	16188	16219	16250	16281
CD22	CD22-INO	16127	16158	16189	16220	16251	16282
CD22	CD22-CELL4	16128	16159	16190	16221	16252	16283
CD22	CD22-CELL13	16129	16160	16191	16222	16253	16284
CD22	CD22-CELL7	16130	16161	16192	16223	16254	16285
CD22	CD22-VM1011	16131	16162	16193	16224	16255	16286
CD22	CD22-RAB-4120	16132	16163	16194	16225	16256	16287
CD22	CD22-Med-12C5-HL	16133	16164	16195	16226	16257	16288
CD22	CD22-Med-19A3	16134	16165	16196	16227	16258	16289
CD22	CD22-Med-16F7	16135	16166	16197	16228	16259	16290
CD22	hu-RFB4	16136	16167	16198	16229	16260	16291
BCMA	BCMA-mJ22-9	16137	16168	16199	16230	16261	16292
BCMA	BCMA-huJ22-10	16138	16169	16200	16231	16262	16293
CD22	CD22-hu-HA22-2	16139	16170	16201	16232	16263	16294
CD19	huCD19-USC3	16140	16171	16202	16233	16264	16295
CD22	BCMA-hu72	16141	16172	16203	16234	16265	16296
MPL	xy-161-3	16142	16173	16204	16235	16266	16297

BAFF-R	hu-BAFFR-USC90	16143	16174	16205	16236	16267	16298
BAFF-R	hu-BAFFR-USC55	16144	16175	16206	16237	16268	16299
BAFF-R	hu-BAFFR-MOR6654	16145	16176	16207	16238	16269	16300
CD19	CD19-hu-mROO5-1	16146	16177	16208	16239	16270	16301
CD22	CD22-h10F4v2	16147	16178	16209	16240	16271	16302
CD22	CD22-HA22	16148	16179	16210	16241	16272	16303
MPL	hu-161-2	16149	16180	16211	16242	16273	16304
MSLN	MSLN-hu22A10	16150	16181	16212	16243	16274	16305
MSLN	MSLN-7D9-HL	16151	16182	16213	16244	16275	16306
MSLN	MSLN-5	16152	16183	16214	16245	16276	16307
BCMA	BCMA-huC13-F12	16153	16184	16215	16246	16277	16308
BCMA	BCMA-huC12A3-L3H3	16154	16185	16216	16247	16278	16309
BCMA	BCMA-J6M0	16155	16186	16217	16248	16279	16310

[00138] ТАБЛИЦА 5

КОМПОНЕНТ АВТОМОБИЛЯ	ДНК SEQ ID	PRT SEQ ID
CD8_Сигнальный_пептид	1	4000
CD8_Сигнальный_пептид	2	4001
IgH_Сигнальный_пептид	3	4002
IgH_Сигнальный_пептид	4	4003
(GGGGS) x3_ЛИНКЕР	5	4004
DDAKK_ЛИНКЕР	6	4005
GGGSG-Streptagx2-Tag	7	4006
PG4SP-линкер	8	4007
PG4SP-v2-линкер	9	4008
Е-катушка-линкер	10	4009
К-катушка-линкер	11	4010
ЕАААК-линкер	12	4011
ЕАААК-v2-линкер	13	4012
Мус - (P) -TAG	14	4013
Мус -TAG	15	4014
MYC-TAG	16	4015
MYC2-TAG	17	4016
MYC4-TAG	18	4017
V5-TAG	19	4018
HA-TAG	20	4019
HIS-TAG	21 год	4020
AVI-TAG-дельта-GSG	22	4021
G4Sx2-TAG	23	4022
G4Sx2-TAG	24	4023
StrepTagII	25	4024
StrepTagII	26	4025

FLAG-TAG	27	4026
IgCL	28	4027
IgG1-CHI	29	4028
IgG2-0C-CHI	30	4029
IgG2-IC-CHI	31 год	4030
IgG3-CHI	32	4031
IgG4-CHI	33	4032
IgAI -CHI	34	4033
IgA2-CHI	35 год	4034
IgD -CHI	36	4035
IgE -CHI	37	4036
IgM-CHI	38	4037
hTCR-альфа-константа_X02883.1	39	4038
hTCRa -WT	40	4039
hTCRa -CSDVP	41 год	4040
hTCRa-opt2	42	4041
hTCRa-T48C-opt	43 год	4042
hTCRa-T48C-opt1	44	4043
hTCRa -SDVP	45	4044
hTCRa-S61R	46	4045
hTCRa -SDVPR	47	4046
hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2	48	4047
hTCR-b1-константная-область_X00437.1	49	4048
hTCR-b2-константная область_L34740	50	4049
hTCRb -WT	51	4050
hTCRb-S57C-opt1	52	4051
hTCRb -KACIAH	53	4052
hTCRb-opt2	54	4053
hTCRb -KAIAH	55	4054
hTCRb-R79G	56	4055
hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt	57	4056
preTCRa_gb_U38996.1	58	4057
preTCRa	59	4058
preTCRa-del48	60	4059
hTCR-гамма_M27331.1	61	4060
hTCR -Гамма- Opt	62	4061
hTCR -Дельта	63	4062
hTCR -Дельта-Opt	64	4063
CD3zECDTM-opt	65	4064
CD3zCP-opt	66	4065
CD3zECDTMCP-opt	67	4066
CD28-CP-opt	68	4067
41BB-CP-opt	69	4068
CD3e-CP-opt	70	4069
CD3zECDTM-opt2	71	4070
CD3zCP-opt2	72	4071
CD3zECDTMCP-opt2	73	4072

CD28-CP-opt2	74	4073
41BB-CP-opt2	75	4074
CD3zECDTM-28z-opt	76	4075
CD3zECDTM-BBz-opt	77	4076
CD3zECDTM-28z-opt2	78	4077
CD3zECDTM-BBz-opt2	79	4078
F2A	80	4079
T2A	81	4080
T2A	82	4081
P2A	83	4082
P2a-вариант	84	4083
E2A	85	4084
SGSG	86	4085
SGSG	87	4086
ФУРИН-РАСЩЕПЛЕНИЕ-САЙТ	88	4087
ФУРИН -РАСЩЕПЛЕНИЕ-САЙТ	89	4088
ФУРИН-РАСЩЕПЛЕНИЕ-САЙТ	90	4089
PuroR_ Вариант - (PAC)	91	4090
BlastR	92	4091
CNB30	93	4092
GMCSF-SP- tEGFR	94	4093
tEGFRviii	95	4094
tCD19	96	4095
tBCMA	97	4096
hCD8-Вариант-ТМ	98	4097
hCD8-Вариант-ТМ-BBz	99	4098
hCD8ТМ-шарнир-BB	100	4099
CD3z-цитозольный домен	101	4100
CD3z-цитозольный домен	102	4101
CD28-шарнир-ТМ-цитозольный домен	103	4102
Myr-MYD88-CD40-Fv'-Fv	104	4103
IL12F	105	4104
41BB-L	106	4105
CD40L	107	4106
K13	108	4107
MC159	109	4108
cFLIP-L/MRIT-альфа	110	4109
cFLIP-p22	111	4110
ФКБП-K13	112	4111
FKBPX2-K13	113	4112
HTLV1-TAX	114	4113
HTLV2-TAX	115	4114
HTLV2-TAX-RS	116	4115
icaspase-9	117	4116
ВИЧ-1 Vif	118	4117

[00139] ТАБЛИЦА 6: ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РАЗЛИЧНЫХ классов CAR на основе антигенсвязывающего домена BCMA-Am06-

HL. Также показаны тип CAR и дополнительные модули. CAR классов 16 и 17 представляют собой одну цепь двойной цепи SIR и проявляют биологическую активность только при совместной экспрессии с их комплементарной цепью (т.е. CAR классов 18 и 19 соответственно). CAR классов 13-15 (одноцепочечный SIR) проявляют только слабую активность.

CAR класс	SEQ ID (ДНК)	SEQ ID (PRT)	ИМЯ	ТИП CAR	Вспомогательный модуль
CAR класса 1	377	4340	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRb-KACIAH] - F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 2	378	4341	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRb-KACIAH] - F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [preTCRa-Del48] -F-F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 3	379	4342	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A- PAC	Полуторная цепь SIR	PAC
CAR класса 4	380	4343	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH-Myc4- [preTCRa-Del48] -F-F2A- PAC	Полуторная цепь SIR	PAC
CAR класса 5	381	4344	CD8SP-MYC- [hTCRa-T48C-opt1] -F-F2A-SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH-V5- [hTCRb-S57C-opt1] - F-P2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 6	382	4345	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRb-S57C-opt] - F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRa-T48C-opt] -F-F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 7	383	4346	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL- [hTCRb-opt2] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH- [hTCRa-opt2] -F-F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 8	384	4347	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL- [hTCRb-opt2] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [preTCRa-Del48] -F-	Двойная цепь SIR	PAC

			F2A-PAC		
CAR класса 9	385	4348	CD8SP- [hTCRb-opt2] -F-P2A-CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH-Myc4-[preTCRa-Del48] -F-F2A-PAC	Полуторная цепь SIR	PAC
CAR 10 класса	386	4349	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRg1-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRd-opt] -F-F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR 11 класса	387	4350	CD8SP-V5- [hTCRg1-opt] -F-P2A-CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRd-opt] -F-F2A-PAC	Полуторная цепь SIR	PAC
CAR класса 12	388	4351	CD8SP-G4Sx2- [hTCRa-S61R-opt] -F-F2A-SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH-G4Sx2- [hTCRb-R79G-opt] -F-P2A-PAC	Полуторная цепь SIR	PAC
CAR 13 класса	389	4352	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH- [hTCRa-SDVP] -F-F2A-PAC	Одиночная цепь SIR	PAC
CAR 14 класса	390	4353	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH- [hTCRb-KAIAH] -F-P2A-PAC	Одиночная цепь SIR	PAC
CAR класса 15	391	4354	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-Am06-HL-vH-Myc4-[preTCRa-Del48] -F-F2A-PAC	Одиночная цепь SIR	PAC
CAR 16 класса	392	4355	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRb-S57C-opt] -F-P2A-PAC	Одна цепочка из двойной цепи SIR	PAC
CAR 17 класса	393	4356	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRb-S57C-opt]	Одна цепочка из двойной цепи SIR	
CAR 18 класса	394	4357	IgHSP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRa-T48C-opt] -F-F2A-BlastR	Одна цепочка из двойной цепи SIR	
CAR класса 19	395	4358	IgHSP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRa-T48C-opt]	Одна цепочка из двойной цепи SIR	

CAR 20 класса	396	4359	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL-Gly-Ser-Linker-BCMA- Am06-HL-vH-Myc-CD8TM- BBz	CAR II	
CAR класса 21	397	4360	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc- CD8TM-BBz	CAR II	
CAR 22 класса	398	4361	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL-Gly-Ser-Linker-BCMA- Am06-HL-vH-Myc-CD8TM- z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	CAR 1	K13 и PAC
CAR 23 класса	399	4362	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL- [hTCRa-CSDVP] -F- F2A-SP-BCMA-Am06-HL- vH- [hTCRb-KACIAH] -F- P2A-Xba-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 24	400	4363	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL-PG4SP-v2- [hTCRb- KACIAH] -F-P2A-SP- BCMA-Am06-HL-vH- PG4SP- [hTCRa-CSDVP] -F- F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 25	401	4364	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL-E-Coil- [hTCRb- KACIAH] -F-P2A-SP- BCMA-Am06-HL-vH-K- Coil- [hTCRa-CSDVP] -F- F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 26	402	4365	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL-EAAAK- [hTCRb- KACIAH] -F-P2A-SP- BCMA-Am06-HL-vH- EAAAK-v2- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 27	403	4366	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL-V5- [hTCRb-KACIAH] - F-P2A-SP-BCMA-Am06- HL-vH-Myc4- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 28	404	4367	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL-Myc2- [hTCRb- KACIAH] -F-P2A-SP- BCMA- Am06-HL-vH- Myc4- [hTCRa-CSDVP] -F- F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC
CAR класса 29	405	4368	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL- [hTCRb-KACIAH] -F- P2A-SP-BCMA-Am06-HL- vH- [hTCRa-CSDVP] -F- F2A-PAC	Двойная цепь SIR	PAC

CAR класса 30	406	4369	CD8-BCMA-Am06-HL-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-Bst-BCMA-Am06-HL-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	zSIR	PAC
CAR 31 класса	407	4370	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL- [hTCRbECD-Bam-CD3zECDTMCP-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH- [hTCRaECD-Kpn-CD3zECDTMCP-opt2]	zSIR	
CAR 32 класса	408	4371	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL- [hTCRb-KAC-ECD-Bam-CD3zECDTMCP-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH- [hTCRa-CSDVP-ECD-Kpn-CD3zECDTMCP-opt2]	SIR	
CAR класса 33	409	4372	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRbECD-Bam-CD3zECDTMCP-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRaECD-Kpn-CD3zECDTM-28z-opt2]	SIR	PAC
CAR класса 34	410	4373	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRbECD-Bam-CD3zECDTM-28z-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc- [hTCRaECD-Kpn-CD3zECDTM-28z-opt2]	SIR	
CAR класса 35	411	4374	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRbECD-Bam-CD3zECDTMCP-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc4- [hTCRaECD-Kpn-CD3zECDTM-BBz-opt2]	SIR	
CAR класса 36	412	4375	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-V5- [hTCRbECD-Bam-CD3zECDTM-BBz-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH-Myc4- [hTCRaECD-Kpn-CD3zECDTM-BBz-opt2]	SIR	
CAR класса 37	413	4376	CD8-BCMA-Am06-HL-vL-IgCL-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-BCMA-Am06-HL-vH-IgG1-CH1-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A- PAC-ДельтаWPRE	zSIR	

CAR класса 38	414	4377	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vL- vH) -Myc-z-P2A-h HEMO-K277A-Flag-T2A- PAC	CAR I	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR класса 39	415	4378	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vL-vH) -CD3e-ECDTMCP- opt2-P2A-hNEMO-K277A- Flag-T2A-PAC	TFP	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR класса 40	416	4379	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vL-vH) -CD3d-ECDTMCP- opt2-P2A-hNEMO-K277A- Flag-T2A-PAC	TFP	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR класса 41	417	4380	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vL-vH) -CD3g-ECDTMCP- opt2-P2A-hNEMO-K277A- Flag-T2A-PAC	TFP	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR класса 42	418	4381	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vL-vH) -CD3z-ECDTMCP- opt2-P2A-hNEMO-K277A- Flag-T2A-PAC	TFP	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR 43 класса	419	4382	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL- [IgCL-TCRg-6MD] -F- P2A-SP-BCMA-Am06-HL- vH- [IgG1-CH1-TCRd-6MD] -F-F2A-hNEMO-K277A	Ab-TCR	hNEMO- K277A- Флаг
CAR класса 44	420	4383	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL- [IgCL-TCRb-IAH-6MD] -F-P2A-SP-BCMA-Am06- HL-vH- [IgG1-CH1-TCRa- SDVP-6MD] -F-F2A- hNEMO-K277A	Ab-TCR	hNEMO- K277A- Флаг
CAR класса 45	421	4384	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vH-vL) -CD3e-ECDTMCP- opt2-P2A-hNEMO-K277A- Flag-T2A-PAC	TFP	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR класса 46	422	4385	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vH-vL) -CD3d-ECDTMCP- opt2-P2A-hNEMO-K277A- Flag-T2A-PAC	TFP	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR класса 47	423	4386	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vH-vL) -CD3g-ECDTMCP- opt2-P2A-hNEMO-K277A- Flag-T2A-PAC	TFP	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR класса 48	424	4387	CD8SP-BCMA-Am06-HL- (vH-vL) -CD3z-ECDTMCP- opt2-P2A-hNEMO-K277A- Flag-T2A-PAC	TFP	hNEMO- K277A- Flag и PAC
CAR класса 49	425	4388	CD8SP-BCMA-Am06-HL- vL-Xho-CD3zECDTMCP- opt-F-P2A-Spe-SP-BCMA- Am06-HL-vH-Mlu-	zSIR	PAC

			CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC		
CAR класса 50	12784	14528	CD8SP-BCMA-Am06-vL-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-vH- [hTCRa-T48C]	Двойная цепь SIR	
CAR класса 51	12785	14529	CD8SP-BCMA-Am06-vL-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-vH- [hTCRa-T48C] -F-F2A-K13-opt	Двойная цепь SIR	K13-vFLIP
CAR класса 52	12786	14530	CD8SP-BCMA-Am06-vL-[hTCRa-T48C] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-vH- [hTCRa-S57C]	Двойная цепь SIR	
CAR класса 53	12787	14531	CD8SP-BCMA-Am06-vL-[hTCRa-T48C] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-vH- [hTCRa-S57C] -F-P2A-K13-opt	Двойная цепь SIR	K13-vFLIP

[00140] ТАБЛИЦА 7: СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ РАЗЛИЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ CAR, СОДЕРЖАЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ АНТИГЕННО-СВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ. ПОРЯДОК РАЗЛИЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ CAR ПОКАЗАН В ТАБЛИЦЕ 6 ДЛЯ CAR НА ОСНОВЕ BCMA-Am06-HL.

			CARs	
	Антиген-мишень	Антиген-связывающий домен	SEQ ID NO (ДНК)	SEQ ID NO (PRT)
1	BCMA	BCMA-Am14-HL	475-523	4438-4486
2	BCMA	BCMA-Am08-HL	426-474	4389-4437
3	BCMA	BCMA-Am06-HL	377-425; 12784-12787	4340-4388; 14528-14531
4	CD19	hu-CAT18-1-HL	867-915	4830-4871
5	CD19	CAT17-HL	818-866	4781-4829
6	CD22	hu-HA22-1	1112-1160	5068-5115
7	CD19	CD19-DART1	916-964	4872-4920
8	CD20	hu-Ubli-1-v4	1063-1111	5019-5067
9	Hu	hu-IntB7-MMG49	2533-2581	6489-6537
10	BCMA	BCMA-BB-CAR02	524-572	4487-4535
11	Her2	Ee 2-169	2288-2336	6244-6292
12	Her2	Her2-XMT-1520	2435-2483	6391-6439
13	Her2	Her2-XMT-1518	2386-2434	6342-6390
14	Her2	Her2-huMab4D5-D98W	2337-2385	6293-6341
15	TSHR	TSHR-hu-3BD10	3611-3659	7567-7615
16	PSMA	PSMA-83A12-HL-AM	3317-3365	7273-7321
17	PSMA	PSMA-76-HL-AM	3268-3316	7224-7272
18	PSMA	hu106mPSMA-4-HL	3219-3267	7175-7223
19	MSLN	MSLN-3-HL-AM	2729-2777	6685-6733
20	MSLN	MSLN-5-HL	2778-2826	6734-6782

21	EGFRviii	EGFRviii-2-AM-HL	1651-1699	5607-5655
22	EGFRviii	EGFRviii-H2M1863N2-HL	1749-1797	5705-5753
23	EGFRviii	EGFRviii-H2M1915N-HL	1798-1846	5754-5802
24	EGFRviii	EGFRviii-131-2	1700-1748	5656-5704
25	DLL3	DLL3-AM6-HL	1553-1601	5509-5557
26	DLL3	DLL3-AM14-HL	1602-1650	5558-5606
27	Нектин 4	Нектин4-66-HL	3072-3120	7028-7076
28	MSLN	MSLN-237-HL	2827-2875	6783-6831
29	MSLN	MSLN-HuAM15	2925-2973	6881-6929
30	MSLN	MSLN76923-HL	2876-2924	6832-6880
31	PRLR	PRLR-CN	3121-3169	7077-7125
32	Muc17	Muc17-11-CN	3023-3071	6979-7027
33	CD19	CD19-AM1	769-817	4732-4780
34	CD19	CD19-9B7	720-768	4683-4731
35	CD20	CD20-HL	1014-1062	4970-5018
36	CD70	CD70-HL-AM13	1210-1258	5166-5214
37	CDH19	CDH19-USC1-HLv4	1308-1356	5264-5312
38	CDH19	CDH19-USC2-HL	1357-1405	5313-5361
39	C16ORF54	C16ORF54-USC1-v4	671-719	4634-4682
40	ВИСТА	huVISTA-USC1-v4	3807-3855	7763-7811
41	ВИСТА	huVISTA-JJ-USC2-v4	3758-3806	7714-7762
42	GPC3	GPC3-USC1-HL-V4	2141-2189	6097-6145
43	GPC3	GPC3-USC2-HL-V4	2190-2238	6146-6194
44	PRLR	PRLR-USC2-HL-V4	3170-3218	7126-7174
45	Muc5Ac	Muc5Ac-USC1-HL-V4	2974-3022	6930-6978
46	FCRH5	FCRH5-USC1-HL-V4	1994-2042	5950-5998
47	LYPD1	LYPD1-HL-V4	2631-2679	6587-6635
48	EMR2	EMR2-USC1-V4	1847-1895	5803-5851
49	EMR2	EMR2-USC2-V4	1896-1944	5852-5900
50	EMR2	mEMR2-USC3-V4	1945-1993	5901-5949
51	gPNMB	m-gPNMB-USC1-HL-v4	2239-2287	6195-6243
52	RNF43	RNF43-USC1-HL4	3366-3414	7322-7370
53	RNF43	RNF43-USC2-HL4	3415-3463	7371-7419
54	CD44v6	CD44v6-USC1-HL4	1161-1209	5117-5165
55	Robo4	Robo4-USC1	3464-3512	7420-7468
56	CEA	CEA-USC1-HL4	1406-1454	5362-5410
57	Her3	Her3-USC1-HL4	2484-2532	6440-6488
58	FOLR1	FOLR1-USC1-HL4	2043-2091	5999-6047
59	FOLR1	FOLR1-USC2-HL4	2092-2140	6048-6096
60	CLDN6	CLDN6-USC1-LH4	1455-1503	5411-5459
61	CLDN6	CLDN6-USC2-LH4	1504-1552	5460-5508
62	MMP16	hMMP16-USC-1-LH4	2680-2728	6636-6684
63	UPK1B	hUPK1B-USC1-LH4	3660-3708	7616-7664
64	UPK1B	hUPK1B-USC2-LH4	3709-3757	7665-7713
65	BMPR1B	hBMPR1B-USC1-LH4	573-621	4536-4584
66	BMPR1B	hBMPR1B-USC2-LH4	622-670	4585-4633
67	Ly6E	Ly6E-USC1-HL4	2582-2630	6538-6586

68	STEAP1	STEAP1-USC1-HL4	3513-3561	7469-7517
69	CD79b	CD79b-USC1-LH4	1259-1307	5215-5263
70	WISP1	hu-UISP1-USC1-LH4	3856-3904	7812-7860
71	WISP1	hu-UISP1-USC2-LH4	3905-3953	7861-7909
72	SLC34A2	huMX35-LH4	3562-3610	7518-7566
73	CD19	hu-CD19-USC1-LH4	965-1013	4921-4969
74	CD22	CD22-HA22	8730-8778	10361-10409
75	STEAP1	STEAP1-hu120	9563-9611	11194-11242
76	Liv1	hLiv1-mAb2	9318-9366	10949-10997
77	Нектин 4	hu-нектин4 mAb1	9465-9513	11096-11144
78	Cripto	hu-Cripto-L1H2	8877-8925	10508-10556
79	gpA33	hu-gpA33	9024-9072	10655-10703
80	ROR1	ROR1-DART4	9514-9562	11145-11193
81	BCMA	BCMA-FS	8191-8239	9822-9870
82	BCMA	BCMA-PC	8289-8337	9920-9968
83	BCMA	BCMA-AJ	8093-8141	9724-9772
84	BCMA	BCMA-NM	8240-8288	9871-9919
85	BCMA	BCMA-TS	8436-8484	10067-10115
86	BCMA	BCMA-PP	8338-8386	9969-10017
87	BCMA	BCMA-RD	8387-8435	10018-10066
88	BCMA	BCMA-BB-CAR02	8142-8190	9773-9821
89	CLL1	CLL1-24C8	8828-8876	10459-10507
90	CLL1	CLL1-24C1	8779-8827	10410-10458
91	FLT3	FLT3-10E3	8975-9023	10606-10654
92	FLT3	FLT3-8B5	8926-8974	10557-10605
93	IL1RAP	IL1RAP-IAPB57	9171-9219	10802-10850
94	IL1RAP	IL1RAP-IAPB63	9220-9268	10851-10899
95	IL1RAP	hu-IL1RAP-CANO4	9269-9317	10900-10948
96	MSLN	MSLN-7D9-v3	9367-9415	10998-11046
97	MSLN	MSLN-hu22A10	9416-9464	11047-11095
98	CD19	hu-Bu13	8632-8680	10263-10311
99	BST1	hu-BST1-A1	8485-8533	10116-10164
100	BST1	hu-BST1-A2	8534-8582	10165-10212
101	BST1	hu-BST1-A3	8583-8631	10213-10262
102	Her2	Her2-XMT-1519	9122-9170	10753-10801
103	Her2	Her2-XMT-1517	9073-9121	10704-10752
104	CD133	CD133-RW03	11312-11360	11472-11520
105	CD133	CD133-W6B3H10	11361-11409	11521-11569
106	CD133	CD133-293AC1C3B9	11410-11458	11570-11618
107	IL113Ra2	hu-IL13Ra2-mAb47	14113-14165	15857-15909
108	CD22	CD22-INO	13424-13476	15168-15220
109	CD22	CD22-CELL4	13106-13158	14850-14902
110	CD22	CD22-CELL13	13212-13264	14956-15008
111	CD22	CD22-CELL7	13159-13211	14903-14955
112	CD22	CD22-VM1011	13689-13741	15433-15485
113	CD22	CD22-RAB-4120	13636-13688	15380-15432
114	CD22	CD22-Med-12C5-HL	13477-13529	15221-15273

115	CD22	CD22-Med-19A3	13583-13635	15327-15379
116	CD22	CD22-Med-16F7	13530-13582	15274-15326
117	CD22	hu-RFB4	14166-14218	15910-15962
118	BCMA	BCMA-mJ22-9	13053-13105	14797-14849
119	BCMA	BCMA-huJ22-10	12947-12999	14691-14743
120	CD22	CD22-hu-HA22-2	13371-13423	15115-15167
121	CD19	huCD19-USC3	14060-14112	15804-15856
122	CD22	BCMA-hu72	12788-12840	14532-14584
123	MPL	hu-161-3	13795-13847	15539-15591
124	BAFF-R	hu-BAFFR-USC90	13954-14006	15698-15750
125	BAFF-R	hu-BAFFR-USC55	13901-13953	15645-15697
126	BAFF-R	hu-BAFFR-MOR6654	13848-13900	15592-15644
127	CD19	CD19-hu-mROO5-1	14007-14059	15751-15803
128	CD22	CD22-h10F4v2	13265-13317	15009-15061
129	CD22	CD22-HA22	13318-13370	15062-15114
130	MPL	hu-161-2	13742-13794	15486-15538
131	MSLN	MSLN-hu22A10	14325-14377	16069-16021
132	MSLN	MSLN-7D9-HL	14272-14324	16016-16068
133	MSLN	MSLN-5	14219-14271	15963-16015
134	BCMA	BCMA-huC13-F12	12894-12946	14638-14690
135	BCMA	BCMA-huC12A3-L3H3	12841-12893	14585-14637
136	BCMA	BCMA-J6M0	13000-13052	14744-14796

[00141] Таблица 8. Образцовые zSIR, SIR и различные конструкции

SEQ ID (ДНК)	SEQ ID (PRT)	ИМЯ
3955	7955	CD8SP-hCD19-EUK5-13-vL-IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-Bst-hCD19-EUK5-13-vH-IgG1-CH1-KPN-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3956	7956	CD8-hCD19-EUK5-13-vL-IgCL-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-hCD19-EUK5-13-vH-IgG1-CH1-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3957	7957	CD8SP-hCD19-EUK5-13-vL-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hCD19-EUK5-13-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3958	7958	
3959	7959	CD8SP-FMC63-vL-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-FMC63-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3960	7960	hCD19-Bu12-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Pac
3961	7961	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-CD19MM-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3962	7962	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-CD123-DART2-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3963	7963	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-CD20-2F2-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3964	7964	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-AFP-61-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3965	7965	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-CD22-h10F4v2-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC

3966	7966	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-hSC22-10-HL-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3967	7967	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-CD123-DART1-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3968	7968	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-WT1-Ab5-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC
3969	7969	CD8SP-CD19-USC2-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-CD19-USC2-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC
3971	7971	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL- [CD3zECDTM-28z-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH- [CD3zECDTM-28z-opt2]
3972	7972	CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL- [CD3zECDTM-BBz-opt] -F-P2A-SP-BCMA-Am06-HL-vH- [CD3zECDTM-BBz-opt2]
16311	16335	CD8SP-FMC63-BBz
16312	16336	CD8SP-MSLN-hu22A10-BBz
16313	16337	CD8SP-MSLN-7D9-HL-BBz
16314	16338	CD8SP-MSLN-5-HL-BBz
16315	16339	CD8SP-MPL-hu-161-2-BBz
16316	16340	CD8SP-BCMA-huC13-F12-BBz
16317	16341	CD8SP-huCD19-mROO5-1-BBz
16318	16342	CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-K13-opt
16319	16343	CD8SP-CD22-INO-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-INO-vH- [hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC
16320	16344	CD8SP-CD22-hu-HA22-2-vL- [hTCRa-T48C] -F-P2A-SP-CD22-hu-HA22-2-vH- [hTCRa-S57C] -F-F2A-Pac
16321	16345	CD8SP-CD22-Med-12C5-HL-vH- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-Med-12C5-HL-vL- [hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC
16322	16346	CD8SP-hu-RFB4-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-hu-RFB4-vH- [hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC
16323	16347	CD8SP-CD22-CELL7-vH- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-CELL7-vL- [hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC
16324	16348	CD8SP-CD22-HA22-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-HA22-vH- [hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC
16325	16349	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH- [hTCRa-T48C] -F-P2A-SP-MSLN-7D9-HL-vL- [hTCRa-S57C]
16326	16350	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-MSLN-7D9-HL-vL- [hTCRa-T48C]
16328	16351	CD8SP-huCD19-mROO5-1- (vL- vH) -CD3e-ECDTMCP-opt2-T2A-PAC
16329	16352	CD8SP-huCD19-mROO5-1- (vL- vH) -CD3d-ECDTMCP-opt2-T2A-PAC
16330	16353	CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa-CSDVP]
16331	16354	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-K13-Opt
16332	16355	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH- [hTCRa-CSDVP]

16333	16356	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-MSLN-7D9-HL-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-K13-opt
16334	16357	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-MSLN-7D9-HL-vL- [hTCRa-CSDVP]
16361	16358	CD8SP-MSLN-5-HL-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN-5-HL-vL- [hTCRb-KACIAH]
16362	16359	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN-7D9-HL-vL- [hTCRb-KACIAH]
16363	16360	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN-hu22A10-vH- [hTCRb-KACIAH]

[00142] Таблица 9: Примерные конструкции Vif

SEQ ID (ДНК)	SEQ ID (PRT)	ИМЯ
11243	11270	ВИЧ1-Vif
11244	11271	CD8SP-FMC63- (vL- vH) -Myc-BBz-T2A-PAC
11245	11272	CD8SP-FMC63- (vL- vH) -Myc-BBz-F-P2A-Vif-F-P2A-PAC
11246	11273	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-Vif
11247	11274	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Myc- [preTCRa-Del48] -F-F2A-Vif
11248	11275	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-Vif
11249	11276	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL-V5- [hTCRg1-opt] -F-P2A-SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Myc- [hTCRd-opt] -F-F2A-Vif
11250	11277	CD8SP-V5- [hTCRg1-opt] -F-P2A-CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Myc- [hTCRd-opt] -F-F2A-Vif
11251	11278	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-Vif
11252	11279	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Vif
11253	11280	CD8-hu-CD19-USC1-LH4-vL-IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-hu-CD19-USC1-LH4-vH-IgG1-CH1-KPN-CD3zECDTMCP-opt2- F-F2A-Xba-Vif
11254	11281	CD8-hu-CD19-USC1-LH4-vL-IgCL-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-hu-CD19-USC1-LH4-vH-IgG1-CH1-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2- F-F2A-Vif
11255	11282	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vL-vH) -Myc-z-P2A-hNEMO-K277A-Flag-T2A-Vif
11256	11283	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vL-vH) -CD3e-ECDTMCP-opt2-P2A-hNEMO-K277A-Flag-T2A-Vif
11257	11284	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vL-vH) -CD3d-ECDTMCP-opt2-P2A-hNEMO-K277A-Flag-T2A-Vif
11258	11285	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vL-vH) -CD3g-ECDTMCP-opt2-P2A-hNEMO-K277A-Flag-T2A-Vif
11259	11286	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vL-vH) -CD3z-ECDTMCP-opt2-P2A-hNEMO-K277A-Flag-T2A-Vif

11260	11287	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL- [IgCL-TCRg-6MD] -F-P2A-SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH- [IgG1-CH1-TCRd-6MD] -F-F2A- Vif
11261	11288	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL- [IgCL-TCRb-IAH-6MD] -F-P2A-SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH- [IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD] - F-F2A-Vif
11262	11289	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vH -vL)-CD3e-ECDTMCP-opt2-P2A-Vif
11263	11290	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vH-vL) -CD3d-ECDTMCP-opt2-P2A-hNEMO-K277A-Flag-T2A-Vif
11264	11291	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vH-vL) -CD3g-ECDTMCP-opt2-P2A-hNEMO-K277A-Flag-T2A-Vif
11265	11292	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4- (vH-vL) -CD3z-ECDTMCP-opt2-P2A-hNEMO-K277A-Flag-T2A-Vif
11266	11293	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-Vif
11267	11294	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz-2A-Vif
11268		pLenti-EF1a-CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz-2A-Vif
11269		pCDNA3-Vif

[00143] Таблица 10. Типичные биспецифические антитела, нацеленные на различные антигены.

Антиген (Ag)	Антиген-связывающий домен	Ag x CD3		Ag x CD28		Ag x 41BB	
		SEQ ID NO (ДНК)	SEQ ID NO (PRT)	SEQ ID NO (ДНК)	SEQ ID NO (PRT)	SEQ ID NO (ДНК)	SEQ ID NO (PRT)
CD19	FMC63	11620	11790	11676	11846	11732	11902
CD19	huFMC63-11	11621	11791	11677	11847	11733	11903
CD19	huFMC63-11-N203Q	11622	11792	11678	11848	11734	11904
CD19	CD19Bu12	11623	11793	11679	11849	11735	11905
CD19	CD19MM	11624	11794	11680	11850	11736	11906
CD19	Ritx-CD19-MOR0028	11625	11795	11681	11851	11737	11907
CD19	CD19-hu-mROO5-1	11626	11796	11682	11852	11738	11908
BCMA	BCMA-J6M0	11627	11797	11683	11853	11739	11909
BCMA	BCMA-huC12A3-L3H3	11628	11798	11684	11854	11740	11910
BCMA	BCMA-huC11.D5.3L1H3	11629	11799	11685	11855	11741	11911
BCMA	BCMA-huC13-F12	11630	11800	11686	11856	11742	11912
CD20	CD20-2F2	11631	11801	11687	11857	11743	11913
CD20	CD20-GA101	11632	11802	11688	11858	11744	11914
CD20	CD20-2H7	11633	11803	11689	11859	11745	11915

		Ag x CD3			Ag x CD28			Ag x 41BB	
CD20	CD20-Ubli-v4	11634	11804		11690	11860		11746	11916
CD20	CD20-2H7	11635	11805		11691	11861		11747	11917
CD20	CD20-7D8	11636	11806		11692	11862		11748	11918
CD22	CD22-h10F4v2	11637	11807		11693	11863		11749	11919
CD22	CD22-H22Rhov2A	11638	11808		11694	11864		11750	11920
CD22	CD22-m971-HL	11639	11809		11695	11865		11751	11921
CD22	CD22-5-HL	11640	11810		11696	11866		11752	11922
CD22	CD22-10-HL	11641	11811		11697	11867		11753	11923
CD22	CD22-HA22	11642	11812		11698	11868		11754	11924
CD30	CD30-5F11	11643	11813		11699	11869		11755	11925
CD30	CD30-Ac10	11644	11814		11700	11870		11756	11926
CD32	CD32-Med9	11645	11815		11701	11871		11757	11927
CD33	CD33-AF5	11646	11816		11702	11872		11758	11928
CD33	CD33-huMyc9	11647	11817		11703	11873		11759	11929
CD33	CD33-Him3-4	11648	11818		11704	11874		11760	11930
CD33	CD33-SGNh2H12	11649	11819		11705	11875		11761	11931
CD33	CD33-15G15-33	11650	11820		11706	11876		11762	11932
CD33	CD33-33H4	11651	11821		11707	11877		11763	11933
CD123	CD123-CSL362	11652	11822		11708	11878		11764	11934
CD123	CD123-1172	11653	11823		11709	11879		11765	11935
CD123	CD123-DART-1	11654	11824		11710	11880		11766	11936
CD123	CD123-DART-2	11655	11825		11711	11881		11767	11937
CD123	CD123-9D7	11656	11826		11712	11882		11768	11938
CD123	CD123-3B10	11657	11827		11713	11883		11769	11939
CD138	CD138	11658	11828		11714	11884		11770	11940
CS1	CS1-HuLuc64	11659	11829		11715	11885		11771	11941
CS1	CS1-huLuc90	11660	11830		11716	11886		11772	11942
FLT3	FLT3-NC7	11661	11831		11717	11887		11773	11943
MPL	MPL-175	11662	11832		11718	11888		11774	11944
MPL	MPL-161	11663	11833		11719	11889		11775	11945
MPL	MPL-111	11664	11834		11720	11890		11776	11946
MPL	Xy-161-2	11665	11835		11721	11891		11777	11947
MPL	MPL-xy-175-2	11666	11836		11722	11892		11778	11948
MPL	MPL-xy-111-2	11667	11837		11723	11893		11779	11949
Lym1	Lym1	11668	11838		11724	11894		11780	11950
Lym2	Lym2	11669	11839		11725	11895		11781	11951
CD70	CD70-h1F6	11670	11840		11726	11896		11782	11952
CD79b	CD79b-2F2	11671	11841		11727	11897		11783	11953

		Ag x CD3			Ag x CD28			Ag x 41BB	
CD179b	CD179b	11672	11842		11728	11898		11784	11954
GPRC5D	GPRC5D-ET150-5	11673	11843		11729	11899		11785	11955
GPRC5D	GPRC5D-ET150-18	11674	11844		11730	11900		11786	11956

[00144] Таблица 11 :

CAR ЦЕЛЬ	«X»	ПРИМЕРЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ, НАПРАВЛЯЕМЫЕ АВТОМОБИЛЯМИ (т.е. обычные автомобили и автомобили следующего поколения. Например, SIR, Ab-TCR, TFP и zSIR)
CD19		ОЛЛ, ХЛЛ, лимфома, лимфоидный бластный криз ХМЛ, множественная миелома, иммунные нарушения
ALK		Немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛА), АККЛО (анapластическая крупноклеточная лимфома), ТИМ (воспалительная миофибробластическая опухоль), или нейробластомы
CD45		Рак крови
BCMA		Миелома, РЕL, лейкоз плазматических клеток, макроглобинемия Вальденстрема
CD5		Рак крови, Т-клеточный лейкоз, Т-клеточная лимфома
BAFF-R		Рак крови, хронический лимфолейкоз, В-ALL
CD20		Рак крови, лейкомия, ОЛЛ, ХЛЛ, лимфома, иммунные нарушения
CD22		Рак крови, лейкомия, ОЛЛ, ХЛЛ, лимфома, лимфоидный бластный криз ХМЛ, иммунные нарушения
CD23		Рак крови, лейкомия, ОЛЛ, ХЛЛ, лимфома, аутоиммунные заболевания
CD30		Ходжкина игровой лимфома, кожная Т - клеточные лимфомы
CD32		Солидные опухоли
CD33		Рак крови, ОМЛ, МДС
CD34		Рак крови, ОМЛ, МДС
CD44v6		Рак крови, ОМЛ, МДС
CD70		Рак крови, лимфома, миелома, макроглобулинемия Вальденстрема
CD79b		Рак крови, ОЛЛ, лимфома
CD123		Рак крови, ОМЛ, МДС
CD138		Рак крови, миелома, РЕL, лейкоз плазматических клеток, макроглобулинемия Вальденстрема
CD179b		Рак крови, ОЛЛ, лимфома
CD276/B7-H3		Саркома Юинга, нейробластома, рабдомиосаркома, рак яичников, колоректальный рак и рак легких
CD324		Солидные опухоли, рак пищевода, простаты, толстой кишки, груди, легких
CDH6		Солидные опухоли, рак почек, яичников, щитовидной железы
CDH17		Аденокарциномы, рак желудочно-кишечного тракта, легких, яичников, эндометрия
CDH19		Солидная опухоль, Меланома
EGFR		Рак толстой кишки, рак легких
CLEC5A		Рак крови, лейкомия, ОМЛ
GR/LHR		Рак предстательной железы, яичников рак или рак молочной железы
CLL1		Рак крови, лейкомия
CMVpp65		ЦМВ-инфекция, ЦМВ-колит, ЦМВ-пневмонит

CAR ЦЕЛЬ	«X»	ПРИМЕРЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ, НАПРАВЛЯЕМЫЕ АВТОМОБИЛЯМИ (т.е. обычные автомобили и автомобили следующего поколения. Например, SIR, Ab-TCR, TFP и zSIR)
CS1		Рак крови, миелома, PEL, лейкоз плазматических клеток
CSF2RA		ОМЛ, ХМЛ, МДС
CD123		Рак крови, ОМЛ, МДС
DLL3		Меланома, рак легких или рак яичников
EBNA3с/МНС I		Инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барра, и связанные с ней заболевания, включая рак
EBV-gp350		Инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барра, и родственные заболевания
EGFR		Солидные опухоли, рак толстой кишки, рак легких
EGFRvIII		Солидные опухоли, глиобластома
ErCam1		Рак желудочно-кишечного тракта
FLT3		Рак крови, ОМЛ, МДС, ОЛЛ
Альфа- рецептор фолиевой кислоты (FR1 или FOLR1)		Рак яичников, NSCLC, рак эндометрия, рак почек или другие солидные опухоли
FSHR		Рак предстательной железы, яичников рак или рак молочной железы
GD2		Нейробластома
GD3		Меланома
GFRa4		Рак, медуллярный рак щитовидной железы
Фукозил-GM1 (GM1)		Мелкоклеточный рак легкого
GPRC5D		Миелома, PEL, лейкоз плазматических клеток, макроглобулинемия Вальденстрема
gp100		Меланома
GPC3		Солидные опухоли, рак легких
gpNMB		Меланома, опухоли головного мозга, рак желудка
GRP78		Миелома
Her2		Солидные опухоли, рак груди, рак желудка
Ee3		Колоректальный рак, рак груди
HMW-MAA		Меланома
HTLV1- TAX/МНС I		Заболевания, связанные с инфекцией HTLV1, Т-клеточная лейкемия-лимфома у взрослых
IL11Ra		Рак крови, ОМЛ, ОЛЛ, ХМЛ, МДС, саркомы
IL6Ra		Солидные опухоли, рак печени
IL13Ra2		Глиобластомы
KSHV-K8.1		Саркома Капоши, PEL, мультицентрическая болезнь Кастлемана
LAMP1		Рак крови, ОМЛ, ОЛЛ, МДС, ХЛЛ, ХМЛ
Льюис		Рак
L1CAM		Солидные опухоли, рак яичников, молочной железы, эндометрия, меланома
LHR		Рак предстательной железы, яичников рак или рак молочной железы
Lym1		Рак крови, лейкемия, лимфома
Lym2		Рак крови, лейкемия, лимфома
CD79b		Рак крови, лимфома

CAR ЦЕЛЬ	«X»	ПРИМЕРЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ, НАПРАВЛЯЕМЫЕ АВТОМОБИЛЯМИ (т.е. обычные автомобили и автомобили следующего поколения. Например, SIR, Ab-TCR, TFP и zSIR)
MART1/MHC I		Меланома
Мезотелин		Мезотелиома, рак яичников, рак поджелудочной железы
Muc1/MHC I		Рак молочной железы, рак желудка, колоректальный рак, рак легких или другие солидные опухоли.
Muc16		Рак яичников
NKG2D		Лейкоз, лимфома или миелома
NYBR1		Рак молочной железы
PSCA		Рак простаты
PR1/MHC I		Рак крови, лейкемия
Пролактиновый рецептор		Рак груди, хромофобный почечно-клеточный рак
PSMA		Рак простаты
PTK7		Меланома, рак легких или рак яичников
ROR1		Рак крови, В-клеточные злокачественные новообразования, лимфома, ХЛЛ
SLea		Рак поджелудочной железы, рак толстой кишки
SSEA4		Рак поджелудочной железы
Тирозиназа/MHC I		Меланома
TCRB1		Т-клеточные лейкозы и лимфомы, аутоиммунные заболевания
TCRB2		Т-клеточные лейкозы и лимфомы, аутоиммунные заболевания
TCRgd		Т-клеточные лейкозы и лимфомы, аутоиммунные заболевания
hTERT		Солидные опухоли, рак крови
TGFBR2		Солидные опухоли, келоидные
TIM1/HA VCR1		Рак почки, рак печени
TROP2		Солидные опухоли, молочная железа, предстательная железа раки
TSHR		Рак щитовидной железы, Т-клеточный лейкоз, Т-клеточная лимфома
TSLPR		Рак крови, лейкемии, ОМЛ, МДС
Тирозиназа/MHC I		Меланома
VEGFR3		Солидные опухоли
WT1/MHC I		Рак крови, ОМЛ
Фолатный рецептор		ОМЛ, миелома
B7H4		Рак груди или рак яичников
CD23		Рак крови, лейкемии, ХЛЛ
GCC		Рак желудочно-кишечного тракта
CD200R		Рак крови, ОМЛ, МДС
AFP/MHC I		Солидные опухоли, рак печени
CD99		Рак печени
GPRC5D		Миелома, Вальденстрема macroglobinemia
HPV16-E7/MHC I		Раки, связанные с ВПЧ16, рак шейки матки, рак головы и шеи
Тканевой фактор 1 (TF1)		Солидные опухоли
Tn-Muc1		Солидные опухоли и рак крови

CAR	«X»	ПРИМЕРЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ, НАПРАВЛЯЕМЫЕ АВТОМОБИЛЯМИ (т.е. обычные автомобили и автомобили следующего поколения. Например, SIR, Ab-TCR, TFP и zSIR)
Igk, легкая цепь		Миелома, лейкоз плазматических клеток
Ras G12V/MHC I		Солидные опухоли и рак крови
CLD18A2 (Клодин 18.2)		Рак желудка, поджелудочной железы, пищевода, яичников или легких
CD43		Рак крови, ОМЛ
NY-ESO-1/MHC I		Миелома
MPL/TPO-R		Рак крови, ОМЛ, МДС, ХМЛ, ОЛЛ
P-гликопротеин (MDR1)		Рак почек, рак печени, миелома
CD179a		Рак крови, острый лейкоз, ХЛЛ, ОЛЛ, лимфома
STEAP1		Рак желудка или простаты или лимфома
Liv1 (SLC39A6)		Рак груди или простаты
Нектин4 (PVRL4)		Рак мочевого пузыря, почек, шейки матки, легких, головы и шеи или груди
Cripto (TDGF1)		Колоректальный рак, рак эндометрия или яичников
gpA33		Колоректальный рак, рак эндометрия или яичников
FLT3		Рак крови, ОМЛ, ОЛЛ, МДС
BST1/CD157		Рак крови, ОМЛ, МДС
IL1RAP		Рак печени, колоректального рака, шейки матки, легких или яичников.
Хлоридный канал		Глиома
IgE		Аллергия
HLA-A2		Болезнь трансплантата против хозяина, отторжение ткани (SIR экспрессируется в регуляторных Т-клетках)
Амилоид		Амилоидозы, Альцгеймера болезнь
HIV1-env		HIV/СПИД и родственные состояния
HIV1-gag		HIV1/СПИД и родственные состояния
Грипп А НА		Инфекция гриппа А
Интегрин В7		Плазматические новообразования, первичная выпотная лимфома
Muc17		Рак поджелудочной железы, рак толстой кишки
CD16ORF54		Рак крови
ВИСТА		Рак крови
Muc5Ac		Рак поджелудочной железы, рак желудка, рак толстой кишки
FCRH5		Новообразование плазматических клеток
LYPD1		Рак яичников, рак эндометрия, меланома
EMR2		Острый лейкоз, лимфома, рак груди, рак толстой кишки
gpNMB		Меланома, рак мозга, рак груди, солидные опухоли
RNF43		Колоректальный рак, рак груди, рак эндометрия
CD44v6		Эпителиальный рак
Робо4		Рак почек, толстой кишки, груди, солидные опухоли
GPC3		Рак печени, рак легких, рак груди
FOLR1		Рак яичников, рак легких, рак почек, солидные опухоли

CAR ЦЕЛЬ	«X»	ПРИМЕРЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ, НАПРАВЛЯЕМЫЕ АВТОМОБИЛЯМИ (т.е. обычные автомобили и автомобили следующего поколения. Например, SIR, Ab-TCR, TFP и zSIR)
CLDN6		Рак яичников, рак печени
MMP16		Меланома, рак мозга, мелкий рак легких, нейробластома
BMPR1B		Рак простаты, рак груди, рак яичников
Ly6E		Грудь, яичник, поджелудочная железа, легкое
WISP1		Глиобластома, рак груди
SLC34A2		Рак легких, рак яичников, рак эндометрия
CD133		Рак легких, рак мозга

[00145] Таблица 12:

Антиген (Ag)	Антиген- связывающий домен	Ag x CD3		Ag x CD28		Ag x 41BB	
		SEQ ID NO (ДНК)	SEQ ID NO (PRT)	SEQ ID NO (ДНК)	SEQ ID NO (PRT)	SEQ ID NO (ДНК)	SEQ ID NO (PRT)
CD19	FMC63	11620	11790	11676	11846	11732	11902
CD19	huFMC63-11	11621	11791	11677	11847	11733	11903
CD19	huFMC63-11- N203Q	11622	11792	11678	11848	11734	11904
CD19	CD19Bu12	11623	11793	11679	11849	11735	11905
CD19	CD19MM	11624	11794	11680	11850	11736	11906
CD19	Ritx-CD19- MOR0028	11625	11795	11681	11851	11737	11907
CD19	CD19-hu- mROO5-1	11626	11796	11682	11852	11738	11908
BCMA	BCMA-J6M0	11627	11797	11683	11853	11739	11909
BCMA	BCMA- huC12A3-L3H3	11628	11798	11684	11854	11740	11910
BCMA	BCMA- huC11.D5.3L1H3	11629	11799	11685	11855	11741	11911
BCMA	BCMA-huC13- F12	11630	11800	11686	11856	11742	11912
CD20	CD20-2F2	11631	11801	11687	11857	11743	11913
CD20	CD20-GA101	11632	11802	11688	11858	11744	11914
CD20	CD20-2H7	11633	11803	11689	11859	11745	11915
CD20	CD20-Ubli-v4	11634	11804	11690	11860	11746	11916
CD20	CD20-2H7	11635	11805	11691	11861	11747	11917
CD20	CD20-7D8	11636	11806	11692	11862	11748	11918
CD22	CD22-h10F4v2	11637	11807	11693	11863	11749	11919
CD22	CD22- H22Rhov2A	11638	11808	11694	11864	11750	11920
CD22	CD22-m971-HL	11639	11809	11695	11865	11751	11921
CD22	CD22-5-HL	11640	11810	11696	11866	11752	11922
CD22	CD22-10-HL	11641	11811	11697	11867	11753	11923
CD22	CD22-HA22	11642	11812	11698	11868	11754	11924

CD30	CD30-5F11	11643	11813		11699	11869		11755	11925
CD30	CD30-Ac10	11644	11814		11700	11870		11756	11926
CD32	CD32-Med9	11645	11815		11701	11871		11757	11927
CD33	CD33-AF5	11646	11816		11702	11872		11758	11928
CD33	CD33-huMyc9	11647	11817		11703	11873		11759	11929
CD33	CD33-Him3-4	11648	11818		11704	11874		11760	11930
CD33	CD33-SGNh2H12	11649	11819		11705	11875		11761	11931
CD33	CD33-15G15-33	11650	11820		11706	11876		11762	11932
CD33	CD33-33H4	11651	11821		11707	11877		11763	11933
CD123	CD123-CSL362	11652	11822		11708	11878		11764	11934
CD123	CD123-1172	11653	11823		11709	11879		11765	11935
CD123	CD123-DART-1	11654	11824		11710	11880		11766	11936
CD123	CD123-DART-2	11655	11825		11711	11881		11767	11937
CD123	CD123-9D7	11656	11826		11712	11882		11768	11938
CD123	CD123-3B10	11657	11827		11713	11883		11769	11939
CD138	CD138	11658	11828		11714	11884		11770	11940
CS1	CS1-HuLuc64	11659	11829		11715	11885		11771	11941
CS1	CS1-huLuc90	11660	11830		11716	11886		11772	11942
FLT3	FLT3-NC7	11661	11831		11717	11887		11773	11943
MPL	MPL-175	11662	11832		11718	11888		11774	11944
MPL	MPL-161	11663	11833		11719	11889		11775	11945
MPL	MPL-111	11664	11834		11720	11890		11776	11946
MPL	Xy-161-2	11665	11835		11721	11891		11777	11947
MPL	MPL-xy-175-2	11666	11836		11722	11892		11778	11948
MPL	MPL-xy-111-2	11667	11837		11723	11893		11779	11949
Lym1	Lym1	11668	11838		11724	11894		11780	11950
Lym2	Lym2	11669	11839		11725	11895		11781	11951
CD70	CD70-h1F6	11670	11840		11726	11896		11782	11952
CD79b	CD79b-2F2	11671	11841		11727	11897		11783	11953
CD179b	CD179b	11672	11842		11728	11898		11784	11954
GPRC5D	GPRC5D-ET150-5	11673	11843		11729	11899		11785	11955
GPRC5D	GPRC5D-ET150-18	11674	11844		11730	11900		11786	11956

[00146] Таблица 13: Цепи TCR, полезные в различных вариантах осуществления:

SEQ ID NO (PRT)	ЦЕПЬ TCR
4038	hTCR-альфа-константа_X02883.1
4039	hTCRa -WT
4040	hTCRa -CSDVP
4041	hTCRa-opt2
4042	hTCRa-T48C-opt
4043	hTCRa-T48C-opt1

4044	hTCRa -SDVP
4045	hTCRa-S61R
4046	hTCRa -SDVPR
4047	hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2
4048	hTCR-b1-константная-область_X00437.1
4049	hTCR-b2-константа
4050	hTCRb -WT
4051	hTCRb-S57C-opt1
4052	hTCRb -KACIAH
4053	hTCRb-opt2
4054	hTCRb -KAIAH
4055	hTCRb-R79G
4056	hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt
4057	preTCRa_gb_U38996.1
4058	preTCRa
4059	preTCRa-del48
4060	hTCR-гамма_M27331.1
4061	hTCR -Гамма- Opt
4062	hTCR -Дельта
4063	hTCR -Дельта- Opt
12602	Трансmemбранный домен TCRA
12603	Трансmemбранный домен TCRb
12604	Трансmemбранный домен TCRd
12605	Трансmemбранный домен TCRg
12606	Соединительный пептид TCRA
12607	Связывающий пептид TCRb
12608	Соединительный пептид TCRd
12609	Соединительный пептид TCry
12610	TCRa связывающий пептид MD
12611	TCRb связывающий пептид MD
12612	TCRd связывающий пептид MD
12613	TCry связывающий пептид MD
12614	Внутриклеточный домен TCRb
12615	Внутриклеточный домен TCry
12616	TCRD альфа
12617	Бета TCRD
12618	TCRD альфа MD
12619	TCRD beta MD
12620	Дельта TCRD
12621	TCRD гамма
12622	TCRD дельта MD
12623	TCRD гамма MD
12624	CD3e-ECDTMCP
12625	CD3e-ECD
12626	CD3e-TM
12627	CD3e-CP
12628	CD3d-ECDTMCP

12629	CD3d-ECD
12630	CD3d-TM
12631	CD3d-CP
12632	CD3g-ECDTMCP
12633	CD3g-ECD
12634	CD3g-TM
12635	CD3g-CP
12636	CD3zECDTMCP
12637	CD3z-TM
12638	CD3z-CP

[00147] В некоторых вариантах реализации композиции содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR 1-15 (Таблица 1), где антигенспецифический домен CAR нацелен на один или несколько специфических антигенов, как описано в Таблицах 3 или Таблицах 5-6 в PCT/US2017/ 064379, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации композиции содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие любой один или несколько остовов 1-60 (Таблица 2), где антигенспецифический домен кодируемого CAR нацелен на один или несколько конкретных антигенов, как описано в данном документе и в Таблице 3 или Таблицах 5-6 в PCT/US2017/064379. В некоторых вариантах реализации композиции содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие остов-1, где антигенспецифический домен CAR в остове-1 нацелен на один или несколько специфичных для рака антигенов, как описано здесь и в Таблице 3 или Таблицах 5-6 в PCT/US2017/064379. В некоторых вариантах реализации композиции содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие остовов-8, где антигенспецифический домен CAR в остове-1 нацелен на один или несколько специфичных для рака антигенов, как описано здесь и в Таблице 3 или Таблицах 5-6 в PCT/US2017/064379.

[00148] В различных вариантах реализации изолированные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие компоненты CAR описанных здесь остовов, кодируют один, два, три или более антигенспецифических доменов (ASD).

[00149] В различных состояниях изолированные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие компоненты CAR описанных здесь остовов, кодируют ноль, один, два, три или более костимулирующих доменов.

[00150] В различных вариантах, изолированные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие компоненты CAR описанных здесь остовов, кодируют ноль, один, два, три или более внутриклеточных сигнальных домена.

[00151] В различных вариантах изолированные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR и описанные здесь остовов, кодируют ноль, один, два, три или более дополнительных модулей.

[00152] Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие желаемые компоненты CAR и дополнительных модулей, описанные в данном документе, могут быть получены с использованием рекомбинантных методов, известных в данной области.

Альтернативно, интересующая нуклеиновая кислота может быть получена синтетически, а не клонирована.

[00153] В некоторые дни генетически модифицированные клетки, описанные здесь, которые экспрессируют CAR и дополнительные компоненты, описанные в данном документе, также экспрессируют агенты, которые снижают токсичность CAR.

[00154] В некоторых состояниях генетически модифицированные клетки, описанные в данном документе, которые экспрессируют CAR и дополнительные компоненты, описанные в данном документе, также экспрессируют агенты, которые усиливают активность CAR.

[00155] В некоторых воплощениях генетически модифицированные клетки, описанные в настоящем, выражают CARs и компоненты аксессуаров, описанные в настоящем, также выражают агенты, которые повышают устойчивость CARs.

[00156] В некоторых законах описанные здесь генетически модифицированные клетки, которые экспрессируют CAR и дополнительные компоненты, описанные в данном документе, также экспрессируют агенты, предотвращающие истощение CAR.

[00157] Композиции, содержащие различные остовы, описанные здесь, содержат CAR, которые содержат один или несколько ASD, которые специфически связываются с антигеном, ассоциированным с раком, как описано в данном документе. Последовательности ASD смежны и находятся в той же самой рамке считывания, что и последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая остаток одной или нескольких цепей CAR.

[00158] Полинуклеотиды, полипептиды, экспрессионные конструкции, рекомбинантно сконструированные клетки, экспрессирующие CAR, содержащие антигенсвязывающие домены согласно раскрытию, а также способ получения и использования таких полипептидов, полинуклеотидов и клеток описаны методами, известными в данной области, и описанными способами в PCT/US2017/024843, WO 2014/160030 A2, WO 2016/187349 A1, PCT/US2016/058305, WO 2015/117229 A1 и PCT/US17/64379, которые полностью включены посредством ссылки.

[00159] Раскрытие обеспечивает несколько антигенсвязывающих доменов, которые можно использовать в генерации CAR (например, CAR 1-15 и остовы 1-60) для применений в адоптивной клеточной терапии. В некоторых вариантах реализации эти антигенсвязывающие домены происходят из антител и антигенов-мишеней, которые экспрессируются при раке, нераковых пролиферативных нарушениях (например, эндометриозах) и/или иммунных нарушениях. Целевые антигены, SEQ ID (ДНК) и SEQ ID (PRT) фрагментов vL, vH и scFv этих антигенсвязывающих доменов показаны в таблице 3. CDR фрагментов vL и vH антигенсвязывающих доменов, нацеленных на различные антигены, представлены показано в таблице 4.

[00160] В некоторых вариантах реализации кодируемый антигенсвязывающий домен (ы) полипептида CARs, нацеленного на конкретный антиген, включает любую одну или несколько аминокислотных последовательностей вариабельного домена легкой цепи

(vL или VL) SEQ ID NO 4118-4190, 9631 до 9660 и от 11460 до 11462, с 14386 до 14415, нацеленных на этот антиген, как указано в таблице 3, где до 9 аминокислотных остатков, но не более 10 аминокислот заменены любыми другими аминокислотными остатками или последовательностями с 80-100% идентичностью аминокислотные последовательности, указанные в любой из SEQ ID NO: 4118-4190, 9631-9660 или 11460-11462 и 14386-14415, или последовательности с 85-100% идентичностью с областями, определяющими комплементарность (CDR) любого из SEQ ID NO SEQ ID NO: от 4118 до 4190, от 9631 до 9660 или от 11460 до 11462 и от 14386 до 14415. CDR1, CDR2 и CDR3 фрагментов vL с SEQ ID NO: 4118-4190, 9631-9660 или 11460-1462 представлены SEQ ID NO: 11961-12066, 12068-12173, 12175-12280, соответственно (таблица 4).

[00161] В некоторых вариантах реализации кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов CAR (обычных CAR и CAR следующего поколения, например, SIR, zSIR, Ab-TCR, Tri-Tac и TFP) полипептид включает любой один или несколько из тяжелых аминокислотные последовательности вариабельного домена цепи (vH или VH) SEQ ID NO: 4192-4264, 9662-9691, 11464-11466 и 14417-14446, нацеленные на этот антиген, как указано в таблице 3, где до 9 аминокислотных остатков, но не более 10 аминокислоты заменены любыми другими аминокислотными остатками или последовательностями с 80-100% идентичностью с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 4192-4264, 9662-9691, 11464-11466 и 14417-14446 или последовательностями с 85-100% идентичностью. к участкам, определяющим комплементарность (CDR) любой из SEQ ID NO: 4192-4264, 9662-9691, 11464-11466 и 14417-14446. CDR1, CDR2 и CDR3 фрагментов vH с SEQ ID NO: 4192-4264, От 9662 до 9691, от 11464 до 11466 и от 14417 до 14446 представлены SEQ ID NO: от 12282 до 12387, от 12389 до 12494, 12497-12602, 16219-16310 соответственно (Таблица 4).

[00162] В некоторых вариантах реализации, кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида CAR 1-15 и остовов 1-60 содержит любую одну или несколько аминокислотных последовательностей одноцепочечных вариабельных фрагментов (scFv) с SEQ ID NO 4266-4338, С 9693 до 9722, с 11468 до 11470 и 14448-14477, где до 9 аминокислотных остатков, но не более 10 аминокислот заменены любыми другими аминокислотными остатками или последовательностями с 80-100% идентичностью аминокислотным последовательностям SEQ ID NO от 4266 до 4338, с 9693 до 9722, от 11468 до 11470 и 14448-14477 или последовательности с 85-100% идентичностью с областями, определяющими комплементарность (CDR) SEQ ID NO: 4266-4338, 9693-9722, 11468-11470 и 14448 -14477. CDR1, CDR2 и CDR3 областей vL фрагментов scFv с SEQ ID NO: 4266-4338, 9693-9722, 11468-11470 и 14448-14477 представлены SEQ ID NO: 11961-12066, 12068-12173, 12175 к 12280, 16126-16217 соответственно (Таблица 4). CDR1, CDR2 и CDR3 областей vH фрагментов scFv с SEQ ID NO: 4266-4338, 9693-9722, 11468-11470 и 14448-14477 представлены SEQ ID NO: 12282-12387, 12389-12494 и с 12497 по 12602 и 16219-16310 соответственно (Таблица 4).

[00163] Следует понимать, что порядок фрагментов vL и vH во фрагменте scFv

может быть либо vL-vH, либо vH-vL. Таким образом, даже при том, что exemplary ScFv фрагменты, показанные в таблице 3 представляют собой либо vL-vH или vH-vL ориентации, ScFv фрагменты с дополнительной ориентации (т.е., vH-vL и vL-vH) могут быть также использованы в способах или композициях раскрытия.

[00164] В таблице 5 перечислены ДНК и PRT SEQ ID иллюстративных элементов, которые можно использовать при конструировании различных CAR 1-15 и остовов 1-60. Нуклеиновой кислоты и аминокислоты SEQ IDs образцовых обычных CARs (например, 2-го поколения CARs, содержащие 41BB costimulatory доменов), и следующего поколения CARs (например, SIR, zSIRs, Ab-TCRs и TFP) на основе vL и vH фрагменты, полученные из BCMA-AM06-HL scFv представлены в таблицах 6. Нуклеиновой кислоты и аминокислоты SEQ IDs образцовых обычных CARs (например, 2-го поколения CARs, содержащие 41BB costimulatory доменов), и следующего поколения CARs (например, SIRs, zSIRs, Ab-TCRs и TFP) на основе фрагментов vL и vH, полученных из других фрагментов scFv, могут быть получены путем замены фрагментов vL и vH BCMA-AM06-HL scFv на фрагменты vL и vH фрагментов scFv, перечисленных в таблице 3. В таблице 7 упоминается последовательность образцовых конструкций CAR, содержащих различные антигенные связывающие домены. Порядок различных конструкций ЦАР в таблице 7 показан в таблице 6 для ЦАР на основе BCMA-Am06-HL. Таким образом, конструкция CAR, представленная SEQ ID NO: 475, напоминает конструкцию CAR, представленную SEQ-ID NO: 377, за исключением того, что фрагменты vL и vH, соответствующие антигенной связывающей домену BCMA-Am06-HL, заменяются фрагментами vL и vH, соответствующими антигенной связывающей области BCMA-Am14-HL. Аналогичным образом, конструкция CAR, представленная SEQ-ID NO: 476, напоминает конструкцию CAR, представленную SEQ-ID NO: 378, за исключением того, что фрагменты vL и vH, соответствующие антигенной связывающей домену BCMA-Am06-HL, заменяются фрагментами vL и vH, соответствующими антигенной связывающей области BCMA-Am14-HL.

[00165] В различных вариантах реализации антигенсвязывающие домены по раскрытию демонстрируют превосходные свойства *in vitro* и *in vivo*, такие как сродство связывания с антигенами-мишенями, секреция цитокинов, пролиферация, цитотоксичность, истощение и долгосрочное сохранение, при использовании в строительстве CAR (то есть обычных CAR и CAR следующего поколения). В различных вариантах реализации эти антигенсвязывающие домены проявляют различные свойства *in vitro* и *in vivo*, такие как сродство связывания с антигенами-мишенями, секреция цитокинов, пролиферация, цитотоксичность, истощение и долгосрочное сохранение, при использовании в конструировании CAR (т.е. CAR и CAR следующего поколения). В различных вариантах осуществления CAR, содержащие эти целевые антигены, можно использовать для генерации разнообразного иммунного ответа.

[00166] В раскрытии также рассматриваются CAR, которые нацелены на один и тот же антиген, но с разными антигенсвязывающими доменами и могут обладать различными

биологическими свойствами, частично в зависимости от эпитопа антигена, на который они нацелены. Таким образом, две группы Her2, нацеленные на CAR, представленные SEQ ID NO: 2435-2483 и SEQ ID NO: 2386-2434, см. Строки 12-13 таблицы 7, демонстрируют разные биологические свойства, такие как активация Т-клеток, секреция цитокинов и цитотоксичность.

[00167] В некоторых вариантах реализации антигенспецифический домен кодируемой молекулы CAR включает антитело, фрагмент антитела, scFv, Fv, Fab, а (Fab ') 2, однодоменное антитело (SDAB), vH или домен vL, или домен VHH верблюда. В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающий домен CAR представляет собой фрагмент антитела scFv, который гуманизирован по сравнению с мышьиной последовательностью scFv, из которого он получен.

[00168] В некоторых случаях scFv можно получить в соответствии со способами, известными в данной области (например, Bird et al., (1988) Science 242: 423-426 и Huston et al., (1988) Proc.Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883). Молекулы ScFv могут быть получены путем связывания областей VH и VL вместе с использованием гибких полипептидных линкеров. Молекулы scFv содержат линкер (например, линкер Ser-Gly) с оптимизированной длиной и/или аминокислотным составом. Длина линкера может сильно влиять на то, как переменные области scFv сворачиваются и взаимодействуют. Например, если используется короткий полипептидный линкер (например, между 5-10 аминокислотами), предотвращается сворачивание внутри цепи. Сворачивание между цепями может быть полезным для объединения двух переменных областей с образованием функционального сайта связывания эпитопа. Примеры ориентации и размера линкера см., Например, в Hollinger et al. 1993 Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. 90: 6444-6448, публикации патентных заявок США №№ 2005/0100543, 2005/0175606, 2007/0014794 и публикации PCT №№ WO2006/020258 и WO2007/024715, описание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00169] scFv может содержать линкер из по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или более аминокислотных остатков между его областями vL и vH. Линкерная последовательность может содержать любую встречающуюся в природе аминокислоту. В некоторых вариантах реализации линкерная последовательность содержит аминокислоты глицин и серин. В другом варианте линкерная последовательность содержит наборы повторов глицина и серина, такие как (Gly4Ser)_n, где n представляет собой положительное целое число, равное или большее 1. В одном варианте линкер может быть (Gly4Ser)₃ или (Gly4Ser)₃ или компоновщик Whitlow. Вариация длины линкера может сохранять или усиливать активность, что дает более высокую эффективность в исследованиях активности.

[00170] В одном варианте осуществления антиген-специфический домен CAR, нацеленный на конкретный антиген, включает одну, две или все три CDR vH (тяжелой цепи) (т.е. vH-CDRL, vH-CDR2 и VH-CDR3) из антигенсвязывающего домена, указанный в этом документе (Таблица 4), и/или один, два или все три CDR vL (легкая цепь) (т.е. VL-

CDRL, vL-CDR2 и VL-CDR3) из антигенсвязывающего домена, указанного в этом документе (Таблица 4).

[00171] В другом варианте реализации антигенспецифический домен включает гуманизированное антитело или фрагмент антитела.

[00172] В некоторых вариантах реализации описанный здесь антигенспецифический домен CAR представляет собой фрагмент антитела scFv. В других вариантах реализации фрагмент антитела имеет более низкую аффинность связывания с антигеном по сравнению с антителом, из которого он получен, но является функциональным, так как обеспечивает биологический ответ, описанный здесь. В одном варианте осуществления молекула CAR содержит фрагмент антитела, который имеет аффинность связывания KD от 10^{-4} М до 10^{-8} М, от 10^{-5} М до 10^{-7} М, 10^{-6} М или 10^{-8} М, для целевой антиген.

[00173] В некоторых вариантах осуществления антиген - специфическая домен CAR описанный здесь связывается с MHC представлен пептид. Были описаны TCR-подобные антитела, нацеленные на пептиды, полученные из вирусных или опухолевых антигенов в контексте человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) -A 1 или HLA-A2. Например, TCR-подобное антитело можно идентифицировать в результате скрининга библиотеки, такой как отображаемая на фage scFv библиотека человека.

[00174] В некоторых вариантах реализации, когда CAR, содержащие функциональные фрагменты антител (включая фрагменты scFv), как описано в настоящем документе, связывают антиген-мишень, индуцируется биологический ответ, такой как активация иммунного ответа, продукция цитокинов, цитотоксичность и подобные, как будет понятно квалифицированному специалисту.

[00175] В некоторых вариантах реализации антигены, специфичные для заболеваний, на которые могут быть нацелены обычные CAR (например, CAR второго поколения), CAR следующего поколения (например, zSIR, SIR, Ab-TCR, Tri-TAC, TFP и т. Д.) и гTCR, когда выражается отдельно или с дополнительными модулями, как описано в данном документе, включают, но не ограничиваются, любой один или несколько из CD5, CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1 (также обозначаемый как подмножество 1 CD2, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24); BAFF-R, лектин-подобная молекула-1 С-типа (CLL-1 или CLECL1); CD33; MPL; вариант III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRviii); ганглиозид G2 (GD2); ганглиозид GD3 (aNeu5Ac (2-8) aNeu5Ac (2-3) bDGalp (1-4) bDGlc (II) Cer); Созревание В-клеток члена семейства рецепторов TNF (BCMA); Антиген Tn ((Tn Ag) или (GalNAc α -Ser/Thr)); простатоспецифический мембранный антиген (PSMA); Рецепторный тирозинкиназоподобный орфанный рецептор 1 (ROR1); FmsLike тирозинкиназа 3 (FLT3); Связанный с опухолью гликопротеин 72 (TAG72); CD38; CD44v6; гликозилированный эпитоп CD43, экспрессируемый на остром лейкозе или лимфоме, но не на гематопозитических предшественниках, гликозилированный эпитоп CD43, экспрессируемый на негематопозитических раках, карциноэмбриональный антиген (CEA); Молекула адгезии эпителиальных клеток (EPCAM); B7H3 (CD276); КОМПЛЕКТ

(CD117); Субъединица альфа-2 рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); Мезотелин; Рецептор интерлейкина 11 альфа (IL-11Ra); антиген стволовых клеток простаты (PSCA); Протеаза серин 21 (Testisin или PRSS21); рецептор 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2); Антиген Льюиса (Y); CD24; Рецептор тромбоцитарного фактора роста бета (PDGFR-бета); Стадийно-специфический эмбриональный антиген-4 (SSEA-4); CD20; Рецептор фолиевой кислоты альфа; Рецепторная тирозин-протеинкиназа ERBB2 (Her2/neu); Муцин 1, ассоциированный с клеточной поверхностью (MUC1); рецептор эпидермального фактора роста (EGFR); молекула адгезии нервных клеток (NCAM); Простаза; фосфатаза простатической кислоты (PAP); мутированный фактор элонгации 2 (ELF2M); Эфрин B2; белок активации фибробластов альфа (FAP); рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептор IGF-I), карбоангидраза IX (CAIX); Субъединица протеасомы (просома, макропаин), бета-тип, 9 (LMP2); гликопротеин 100 (gp100); слитый белок онкогена, состоящий из кластерной области точки разрыва (BCR) и гомолога 1 вирусного онкогена мышинного лейкоза Абельсона (Abl)(bcr-abl); тирозиназа; рецептор 2 эфрина типа A (EphA2); Фукозил GM1; молекула адгезии сиалил-Льюиса (sLe); ганглиозид GM3 (aNeu5Ac (2-3) bDCIalp (1-4) bDGlc (1-1) Cer); трансглутаминаза 5 (TGS5); высокомолекулярный антиген, ассоциированный с меланомой (HMWMAA); о-ацетил-GD2 ганглиозид (OAcGD2); опухолевый эндотелиальный маркер 1 (TEM1/CD248); опухолевый эндотелиальный маркер 7, родственник (TEM7R); клаудин 6 (CLDN6); рецептор тиреотропного гормона (TSHR); G-протеиновый рецептор класса C, группа 5, член D (GPRC5D); открытая рамка считывания хромосомы X 61 (CXORF61); CD97; CD179a; киназа анапластической лимфомы (ALK); Полисиаловая кислота; специфичный для плаценты 1 (PLAC1); гексасахаридная часть гликокерамида globoH (GloboH); антиген дифференцировки молочной железы (NY-BR-1); уроплакин 2 (UPIK2); Клеточный рецептор 1 вируса гепатита А (HAVCR1); адренорецептор бета 3 (ADRB3); паннексин 3 (PANX3); Рецептор 20, связанный с G-белком (GPR20); комплекс лимфоцитарного антигена 6, локус К 9 (LY6K); Обонятельный рецептор 51E2 (OR51E2); Белок альтернативной рамки считывания TCR гамма (TARP); Опухолевый белок Вильмса (WT1); Антиген 1 рака/яичка (NY-ES0-1); Антиген 2 рака/семенников (LAGE-1a); Ассоциированный с меланомой антиген 1 (MAGE-A1); Ген 6 варианта транслокации ETS, расположенный на хромосоме 12p (ETV6-AML); белок спермы 17 (SPA17); Семейство антигенов X, член 1A (XAGE1); рецептор 2 на поверхности клеток, связывающийся с ангиопоэтином (Tie 2); антиген-1 рака яичка меланомы (MAD-CT-1); антиген-2 рака яичка меланомы (MAD-CT-2); Fos-родственный антиген 1; опухолевый белок p53 (p53); мутант p53; простейный; выживание; теломераза; опухолевый антиген-1 карциномы простаты (PCT A-1 или галектин 8), антиген меланомы, распознаваемый Т-клетками 1 (MelanA или MART1); Мутант по саркоме крысы (Ras); обратная транскриптаза теломеразы человека (hTERT); контрольные точки транслокации саркомы; ингибитор меланомы апоптоза (ML-IAP); ERG (трансмембранная протеаза, слитый ген серина 2 (TMPRSS2) ETS); N-ацетилглюкозаминилтрансфераза V (NA17); парный бокс-белок Pax-3 (PAX3); Рецептор

андрогенов; Cyclin B1; v- Мус птичьего myelocytomatosis вирусный онкоген нейробластомы полученны гомолог (MYCN); Член семейства Ras Homolog C (RhoC); Родственный тирозиназе белок 2 (TRP-2); Цитохром P450 1B 1 (CYP1B 1); CCCTC-связывающий фактор (белок цинкового пальца) - подобный (BORIS или брат регулятора отпечатанных сайтов), антиген плоскоклеточной карциномы, распознаваемый Т-клетками 3 (SART3); Парный бокс-белок Pax-5 (PAX5); проакрозин- связывающий белок sp32 (OY- TES1); лимфоцит-специфическая протеинтирозинкиназа (LCK); Якорный белок киназы 4 (AKAP-4); синовиальная саркома, точка останова 2 по X (SSX2); Рецептор для конечных продуктов с улучшенным гликированием (RAGE-1); почечный повсеместный 1 (RUI); почечный повсеместный 2 (RU2); легумаин; вирус папилломы человека Е6 (HPV E6); вирус папилломы человека Е7 (HPV E7); кишечная карбоксилэстераза; мутировавший белок теплового шока 70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; Ассоциированный с лейкоцитами иммуноглобулиноподобный рецептор 1 (LAIR1); Fc-фрагмент рецептора IgA (FCAR или CD89); Лейкоцитарный иммуноглобулиноподобный рецептор подсемейства A, член 2 (LILRA2); Член семейства CD300, подобный молекуле (CD300LF); Член A семейства 12 лектиновых доменов C-типа (CLEC12A); антиген 2 стромальных клеток костного мозга (BST2); EGF-подобный модуль, содержащий муцин-подобный рецептор гормона, подобный 2 (EMR2); лимфоцитарный антиген 75 (LY75); Глипикан-3 (GPC3); Fc рецептор-подобный 5 (FCRL5); и иммуноглобулиновый лямбда-подобный полипептид 1 (IGLL1), MPL, биотин, метка эпитопа c-MYC, CD34, LAMP1 TROP2, GFRalpha4, CDH17, CDH6, NYBR1, CDH19, CD200R, Slea (CA19.9; сиалиновый антиген Льюиса) Fucosyl -GM1, PTK7, gpNMB, CDH1-CD324, DLL3, CD276/B7H3, IL11Ra, IL13Ra2, CD179b-IGL1, ALK TCRгамма -дельта, NKG2D, CD32 (FCGR2A), CSPG4-HMW-MAA, Tim1- / HMW-MAA, Tim1- GM-CSFR-альфа), TGFbetaR2, VEGFR2/KDR, Lews Ag, цепь TCR-beta1, цепь TCR-beta2, цепь TCR-гамма, цепь TCR-дельта, FITC, рецептор лейтенизирующего гормона (LHR), рецептор фолликулостимулирующего гормона (FSHR), рецептор гормона хорионического гонадотропина (CGHR), CCR4, SLAMF6, SLAMF4, гликопротеин оболочки ВИЧ1, HTLV1-Tax, CMV pp65, EBV-EBNA3c, гемагглютинин гриппа A (HA), GAD, PDL1, гуанилил-циклаза KSHV-K8.1 белок, KSHV- Gh белка, аутоантитела к Desmoglein 3 (Dsg3), аутоантитела к Desmoglein 1 (Dsg1), HLA, HLA-A, HLA-A2, HLA-B, HLA-C, HLA - DP, HLA-DM, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA-DQ, HLA-DR, HLA-G, IGE, CD99, RAS G12V, тканевый фактор 1 (TF1), AFP, GPRC5D, claudin18.2 (CLD18A2 OR CLDN18A.2), Р-гликопротеин, STEAP1, LIV1, NECTIN-4, CRIPTO, MPL, GPA33, BST1/CD157, хлоридный канал с низкой проводимостью, Integrin B7, Muc17, C16ORF54, VISTA, Muc5Ac, FCRH5, CLDN6, MMP16, UPK1B, BMPR1B, Ly6E, WISP1 и SLC34A2.

[00176] В некоторых вариантах реализации антигены, ассоциированные с заболеванием или специфичные для него, на которые могут нацеливаться CAR, при экспрессии отдельно или с дополнительными модулями, как описано в данном документе, включают, но не ограничиваются ими, любой один или несколько из 4 -1BB, 5T4, антиген

аденокарциномы, альфа-фетопротеин, BAFF, клетка В-лимфомы, антиген C242, CA-125, карбоангидраза 9 (CA-IX), C-MET, CCR4, CD152, CD19, CD20, CD200, CD22, CD221, CD23 (рецептор IgE), CD28, CD30 (TNFRSF8), CD33, CD4, CD40, CD44 v6, CD51, CD52, CD56, CD74, CD80, CD123, CEA, CNTO888, CTLA-4, DR5, EGFR, EpCAM, CD3, FAP, дополнительный домен-В фибронектина, рецептор фолиевой кислоты 1, GD2, ганглиозид GD3, гликопротеин 75, GPNMB, HER2/neu, HGF, киназа рецептора фактора рассеяния человека, рецептор IGF-1, IGF-I, IgG1, L1- CAM, IL-13, IL-6, рецептор инсулиноподобного фактора роста I, интегрин $\alpha 5\beta 1$, интегрин $\alpha v\beta 3$, LAMP1, MORAb-009, MS4A1, MUC1, муцин CanAg, N-гликолилнейраминная кислота, NPC-1C, PDGF-R α , PDL192, фосфатидилсерин, клетки карциномы простаты, RANK L, RON, ROR1, SCH 900105, SDC1, SLAMF7, TAG-72, тенасцин C, TGF бета 2, TGF- β , TRAIL-R1, TRAIL-R2, опухолевый антиген CTAA16.88, VEGF-A, VEGFR-1, VEGFR2, виментин и их комбинации. Другие антигены, специфичные для рака, будут очевидны специалистам в данной области и могут быть использованы в связи с альтернативными вариантами осуществления настоящего описания.

[00177] В некоторых вариантах реализации антигены, связанные с раком или специфические для него, которые могут быть нацелены на CAR, при экспрессии отдельно или с дополнительными модулями, как описано в данном документе, включают, но не ограничиваются ими, любой один или несколько из BCMA, FLT3, CD19, CD20 (MS4A1), CD22, STEAP1, CD79b, интегрин B7, Her2, Her3, Liv1, TSHR (рецептор тиреотропного гормона), PSMA, MSLN (мезотелин), EGFRviii, нектин 4, рецептор пролактина (PRLR), рецептор пролактина Muc17, Muc5Ac, CD70, CD179b, CDH19, CD16ORF54, VISTA (иммунорегуляторный рецептор V-набора или VSIR), GPC3 (глипикан 3), DLL3 (дельта-подобный канонический лиганд Notch 3), PTK7, FCRH5 (рецептор Fc, подобный 5), LYPD1 (Домен LY6/PLAUR, содержащий 1), EMR2 (адгезионный G-белок-связанный рецептор E2 или ADGRE2), gpNMB (гликопротеин nmb), белок безымянного пальца 43 (RNF43), Robo4, CEA, Her3, фолатный рецептор 1 (FOLR1), CLDN6 (Клаудин 6), MMP16 (матриксная металлопептидаза 16), уроплакин 1B (UPK1B), рецептор костного морфогенетического белка типа 1B (BMPRI1B), Ly6E, WISP1, SLC34A2, Cripto, gpA33, ROR1, CLL1, IL1RAP, BST1, CD133 и их комбинации. В некоторых вариантах реализации антигенспецифические домены CAR являются специфическими для BCMA, FLT3, CD19, CD20 (MS4A1), CD22, STEAP1, CD79b, интегрин B7, Her2, Her3, Liv1, TSHR (рецептора тиреотропного гормона), PSMA, MSLN (мезотелин), EGFRviii, нектин 4, рецептор пролактина (PRLR), Muc17, Muc5Ac, CD70, CD179b, CDH19, CD16ORF54, VISTA (иммунорегуляторный рецептор V-набора или VSIR), GPC3 (глипикан 3), подобный каноническому DLL3 (Notch лиганд 3), PTK7, FCRH5 (рецептор Fc, подобный 5), LYPD1 (домен LY6/PLAUR, содержащий 1), EMR2 (адгезионный G-белок-связанный рецептор E2 или ADGRE2), gpNMB (гликопротеин nmb), белок безымянного пальца 43 (RNF43), Robo4, CEA, Her3, рецептор фолиевой кислоты 1 (FOLR1), CLDN6 (Claudin 6), MMP16 (матриксная металлопептидаза 16), уроплакин 1B (UPK1B), рецептор костного

морфогенетического белка типа 1B (BMPR1B), Ly6E, WISP1, SLC34A2, Cripto, gpA33, ROR1, CLL1, IL1RAP, BST1 и CD133. В некоторых вариантах реализации антигенспецифические домены CAR содержат последовательности scFv, SEQ ID которых приведены в таблице 3. В некоторых вариантах реализации антигенспецифические домены CAR содержат последовательности CDR, SEQ ID которых представлены в таблице 4.

[00178] В различных вариантах реализации иммунные клетки, экспрессирующие CAR, как обычные, так и следующего поколения (например, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), содержащие эти антигенсвязывающие домены, могут быть созданы и использованы для адоптивных клеточных терапия рака, инфекционных и иммунных нарушений с использованием методов, известных в данной области, и способов, описанных в PCT/US2017/024843, WO 2014/160030 A2, WO 2016/187349 A1, PCT/US2016/058305 и PCT/US17/64379, которые включены сюда в качестве ссылки во всей своей полноте.

[00179] CAR (например, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, Tri-TAC, TFP и т.п.) при использовании отдельно или с дополнительными модулями, как описано в данном документе, может содержать антигенсвязывающий домен (например, антитело или фрагмент антитела), который связывается с поддерживающим заболеванием антигеном (например, поддерживающим заболеванием антигеном, как описано здесь). В некоторых вариантах реализации поддерживающий заболевание антиген представляет собой антиген, присутствующий на клетках, которые поддерживают выживание и пролиферацию вызывающих заболевание клеток. В некоторых вариантах реализации поддерживающий заболевание антиген представляет собой антиген, присутствующий на стромальной клетке или супрессорной клетке миелоидного происхождения (MDSC). Стромальные клетки могут секретировать факторы роста и цитокины, способствующие пролиферации клеток в микроокружении. Клетки MDSC могут блокировать пролиферацию и активацию Т-клеток. Не ограничиваясь теорией, в некоторых вариантах реализации клетки, экспрессирующие CAR (например, CARII, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), разрушают поддерживающие заболевание клетки, тем самым косвенно блокируя рост или выживание вызывающих заболевание клеток.

[00180] В некоторых вариантах реализации антиген стромальных клеток выбран из одного или нескольких из: антигена 2 стромальных клеток костного мозга (BST2), белка активации фибробластов (FAP) и тенасцина. В вариантах реализации изобретения антиген MDSC выбран из одного или нескольких из: CD33, CD11b, C14, CD15 и CD66b. Соответственно, в некоторых вариантах реализации антиген, поддерживающий заболевание, выбран из одного или нескольких из: антигена 2 стромальных клеток костного мозга (BST2), белка активации фибробластов (FAP) или тенасцина, CD33, CD11b, C14, CD15 и CD66b.

[00181] В другом варианте реализации каждая антигенспецифическая область CAR (например, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) может содержать двухвалентный (или двухвалентный) одноцепочечный вариабельный фрагмент (di-scFvs, bi-scFvs). В

некоторых вариантах реализации CAR (например, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), содержащие по меньшей мере две антиген-специфические нацеливающие области, будут экспрессировать два scFv, специфичных для каждого из двух антигенов. Результирующий ASD присоединяется к костимулирующему домену и внутриклеточному сигнальному домену через шарнирную область и трансмембранный домен. Типичный CAR (zSIR), нацеленный на два антигена, представлен SEQ ID NO: 3962 и нацелен на CD19 и CD123.

[00182] В дополнительном варианте реализации каждый ASD CAR содержит диатело.

[00183] В некоторых вариантах реализации ASD CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) содержит фрагменты vL, чьи SEQ ID и целевые антигены перечислены в таблице 3.

[00184] В некоторых вариантах реализации ASD CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) содержит фрагменты vH, SEQ ID и целевые антигены которых перечислены в таблице 3.

[00185] В некоторых вариантах реализации ASD CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.д.) содержит scFv, SEQ ID и целевые антигены которого перечислены в таблице 3.

[00186] В одном варианте осуществления антигенспецифический домен CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть, *например* CDR, из vL и vH фрагментов, ориентированных на этот антиген, чьи из SEQ ID NO приведены в таблице 4.

[00187] В одном варианте реализации антигенспецифический домен CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть, *например* CDR, из vL и vH фрагментов оцFv, ориентированных на этот антиген, чьи из SEQ ID NO перечислены в **таблицах 4**.

[00188] В некоторых вариантах реализации ASD CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) содержит фрагменты V_{HH} (нанотела).

[00189] В одном варианте осуществления антигена - специфический домен CAR (*например*, CAR I, II, CAR, SIR, zSIR, Ab-TCR, СФП и тому подобное) против антигена - мишени представляет собой антиген - связывающие части не- остонов иммуноглобулина, нацеленный на этот антиген.

[00190] В одном варианте реализации антигенспецифический домен CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть рецептора, который, как известно, связывают этот антиген-мишень.

[00191] В одном варианте осуществления специфический домен, содержащий ab, антиген CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.д.) против антигена-мишени, представляет собой антигенсвязывающую часть лиганда, которая является известно, что он связывает этот антиген-мишень.

[00192] Описание демонстрирует, что CAR, нацеленные на один и тот же антиген,

могут иметь разные биологические свойства в зависимости от конкретного эпитопа антигена, с которым они связываются. Таким образом, два CAR, нацеленных на CD19 (например, SEQ ID NO: 916 и 818), могут иметь разные биологические свойства (например, цитотоксичность, пролиферацию или секрецию цитокинов и т. Д.) В зависимости от различных эпитопов CD19, с которыми они связываются. В одном из вариантов осуществления настоящего описания представлены CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые связываются с одним и тем же эпитопом на различных мишенях, перечисленных в Таблицах 3, как и любой из CAR раскрытие (например, CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые обладают способностью конкурировать за связывание с различными мишенями с любым из CAR в раскрытии). В некоторых вариантах реализации антигенспецифические домены этих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) могут происходить из фрагментов vL, фрагментов vH или фрагментов scFv антител. В некоторых вариантах реализации эталонные антитела для исследований перекрестной конкуренции для определения эпитопа-мишени, распознаваемого CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию, представляют собой scFvs, нацеленные на этот антиген и имеющий последовательности, показанные в SEQ ID NO: 4266-4338, 9693-9722 и 11468-11470 (таблица 3). В типичном варианте осуществления эталонный scFv BCMA-Am14-HL, представленный SEQ ID NO: 4266, можно использовать в исследованиях перекрестной конкуренции для определения целевого эпитопа, распознаваемого CAR на основе BCMA-Am14-HL и остовов по настоящему раскрытию. В некоторых вариантах реализации эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции с различными мишенями представляют собой CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), SEQ ID которых показаны в таблице 7.

[00193] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CD19-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на CD19 и имеющие SEQ ID: 4 269-4270, 4272, 4298, 4299, 4338, 14462 (**Таблица 3**).

[00194] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CD19 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), описанные в этом раскрытии, представляют собой CD19-CAR с SEQ ID NO: 4830-4871, 4781-4829, 4872-4920, 4732-4780, 4683-4731, 4970-5018 и 4921-4969 (**таблица 7**).

[00195] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CD20-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на CD20 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3.

[00196] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований

перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CD20 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), описанные в этом раскрытии, представляют собой CD20-CAR с SEQ как указано в таблице 7.

[00197] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CD22-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на CD20 и имеющие SEQ ID:14449-14458, 14460, 14469-70, как указано в таблице 3.

[00198] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CD22 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), описанные в этом раскрытии, представляют собой CD22-CAR с SEQ ID, указанными в таблице 7.

[00199] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых BAFF-R-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на BAFF-R и имеющие SEQ ID: 14465-14467, как указано в таблице 3.

[00200] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на BAFF-R (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), описанные в этом раскрытии, представляют собой BAFF-R-CAR с SEQ ID, указанными в таблице 7.

[00201] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых DLL3-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на DLL3 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3.

[00202] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на DLL3 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), описанные в этом раскрытии, представляют собой DLL3-CAR с SEQ ID, указанными в таблице 7.

[00203] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых PTK7-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на PTK7 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3.

[00204] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований

перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на PTK7 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), описанные в этом раскрытии, представляют собой PTK7-CAR с SEQ ID, как указано в таблице 7.

[00205] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых MSLN-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на MSLN и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3.

[00206] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых MSLN-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на MSLN и имеющие SEQ ID: 4284-4285, 4293-4295, 9715 и 9716.

[00207] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на MSLN (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), описанные в этом раскрытии, представляют собой MSLN-CAR с SEQ ID, как указано в таблице 7.

[00208] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых Her2-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на Her2 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3.

[00209] В одном варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на Her2 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) от раскрытия представлены SEQ ID NO: 4276-4279.

[00210] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на Her2 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.) описанные в этом раскрытии, представляют собой Her2-CAR с SEQ ID NO: 6244-6292, 6391-6439, 6342-6390 и 6293-6341 (таблица 7).

[00211] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых TSHR-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на TSHR и имеющие SEQ ID: 4280, как указано в таблице 3.

[00212] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR,

нацеленных на TSHR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.) описанные в этом раскрытии, представляют собой TSHR-CAR с SEQ ID NO: 7567-7615 (таблица 7).

[00213] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых EGFR-viii-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на EGFR-viii и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3.

[00214] В другом варианте реализации эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых EGFRviii-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии представляют собой EGFRviii-CAR с SEQ ID NO: 5607-5655, 5705-5753, 5754-5802 и 5656-5704.

[00215] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на PRLR (рецептор пролактина) (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и подобные) настоящего описания представляют собой scFv, нацеленные на PRLR (рецептор пролактина) и имеющие SEQ ID, перечисленные в таблице 3. В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения эпитопов-мишеней, распознаваемых CAR, нацеленных на PRLR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) раскрытия представлены SEQ ID NO: 4296 и 4309.

[00216] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на PRLR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.) описанные в этом раскрытии, представляют собой PRLR-CAR, с SEQ ID NO: 7077-7125 и 7126-7174, как указано в таблице 7.

[00217] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых PSMA (специфический мембранный антиген простаты)-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) (например, SEQ ID NO: 7273-7321, 7224-7272 и 7175-7223) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на PSMA и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4281-4283). В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых PSMA-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на PSMA и имеющие SEQ ID: 4281-4283.

[00218] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на PSMA (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.),

Описанные в этом раскрытии, представляют собой PSMA-CAR, указанный в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 7273-7321, 7224-7272 и 7175-7223).

[00219] В одном варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции против CAR, нацеленных на DLL3 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.) из раскрытия, представляют собой scFv, нацеленные на DLL3, перечисленные в таблице 3 (например, , SEQ ID NO: 4290-4291).

[00220] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых FOLR1-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) из раскрытия (например, SEQ ID NO: 5999-6047 и 6048-6096) представляют собой нацеленные на FOLR1 scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4323-4324). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на FOLR1, согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 5999-6047 и 6048-6096).

[00221] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на GPC3 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) раскрытия (например, SEQ ID NO: 6097-6145 и 6146-6194) представляют собой нацеленные на GPC3 scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4307-4308). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на GPC3, согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 6097-6145 и 6146-6194).

[00222] В другом варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на WISP1 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии (например, SEQ ID NO: 7812-7860 и 7861-7909) представляют собой нацеленные на WISP1 scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4335 и 4336). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на WISP1, согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 7812-7860 и 7861-7909.

[00223] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на EMR2 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии (например, SEQ ID NO: 5803-5851, 5852-5900 и 5901-5949) представляют собой нацеленные на EMR2 scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4313, 4314 и 4315). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на EMR2, согласно настоящему описанию,

представлены SEQ ID NO: 4803-5851, 585-5900, 5901-5949.

[00224] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR-нацелившимися на UPK1B (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии (например, SEQ ID NO: 7616-7664, 7665-7713) представляют собой нацеленные на UPK1B scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4328 и 4329). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на UPK1B, согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 7616-7664, 7665-7713.

[00225] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR I, нацеливающими на BMPR1B (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии (например, SEQ ID NO: 4536-4584, 4585-4633) представляют собой нацеленные на BMPR1B scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4330 и 4331). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на BMPR1B, согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 4536-4584, 4585-4633.

[00226] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на BMPR1B (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой BMPR1B-CAR, указанный в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 4536-4584, 4585-4633).

[00227] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CDH19 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии (например, SEQ ID NO: 5264-5312, 5313-5361) представляют собой нацеленные на CDH19 scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4302 и 4303). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на CDH19, согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 5264-5312, 5313-5361.

[00228] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CDH19 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой CDH19-CAR, указанный в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 5264-5312, 5313-5361).

[00229] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых VISTA-

нацеливающими CAR по настоящему описанию (например, SEQ ID NO: 7763-7811, 7714-7762), представляют собой VISTA- нацеливание на scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4305 и 4306). В одном варианте осуществления эталонные scFv для перекрестных конкурентных исследований для определения целевых эпитопов, распознаваемых VISTA-нацеленными CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию представлены SEQ ID NO: 7763-7811, 7714-7762.

[00230] В одном из вариантов реализации эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых VISTA-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) настоящего описания представляют собой CAR нацеленные на VISTA как указано в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 7763-7811, 7714-7762).

[00231] В другом варианте реализации эталонный scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на IL13Ra2 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии представляют собой scFv IL13Ra2, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 14448).

[00232] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на IL13Ra2 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой IL13Ra2-CAR, указанный в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 15857-15909).

[00233] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых с помощью FLT3-нацеленных CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии (например, SEQ ID NO: 10606-10654, 10557-10605) представляют собой нацеленные на FLT3 scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 9710 и 9711). В одном варианте осуществления эталонные scFv для перекрестных конкурентных исследований для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленной на FLT3 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) раскрытия представлены SEQ ID NO: 10557-10605, 10606-10654.

[00234] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на FLT3 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой FLT3-CAR, указанный в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 10557-10605, 10606-10654).

[00235] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CLDN6-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытии (например, SEQ ID NO: 5411-5459, 5460-5508) представляют собой нацеленные на CLDN6 scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO:

4325 и 4326). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на CLDN6 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию представлены SEQ ID NO: 5411-5459, 5460-5508.

[00236] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CLDN6 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой CLDN6-CAR, указанный в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 5411-5459, 5460-5508).

[00237] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR-нацелившимися на ROBO4 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в раскрытии (например, SEQ ID NO: 7420-7468) представляют собой нацеленные на ROBO4 scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4320). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на ROBO4 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию представлены SEQ ID NO: 7420-7468.

[00238] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на ROBO4 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой ROBO4-CAR, указанный в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 7420-7468).

[00239] В другом варианте реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых IL1RAP-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) описанные в этом раскрытия (например, SEQ ID NO: 10802-10850, 10851-10899, 10900-10948) представляют собой нацеленные на IL1RAP scFv, перечисленные в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 9712, 9713 и 9714). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеливающими на IL1RAP (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию представлены SEQ ID NO: 10802-10850, 10851-10899, 10900-10948.

[00240] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на IL1RAP (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой IL1RAP-CAR, указанный в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 10802-10850, 10851-10899, 10900-10948).

[00241] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CD22 -

нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) (например, SEQ ID NO: 5068-5115, 10361-10409) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на CD22 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4271, 9693, 12502). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CD22, как раскрыто в данном документе, представлены SEQ ID NO: 5068-5115, 10361-10409.

[00242] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CD22 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), описанные в этом раскрытии, представляют собой CD22-CAR, перечисленные в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 5068-5115, 10361-10409).

[00243] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CLL1-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) (например, SEQ ID NO: 10459-10507, 10410-10458) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на CLL1 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 9708 и 9703). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CLL1, как раскрыто в данном документе, представлены SEQ ID NO: 10410-10458, 10459-10507.

[00244] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CLL1 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой CAR CLL1, перечисленные в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 10410-10458, 10459-10507).

[00245] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых BST1-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) (например, SEQ ID NO: 10116-10164, 10165-10212, 10213-10262) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на BST1 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 9718, 9719 и 9720). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на BST1, как раскрыто в данном документе, представлены SEQ ID NO: 10116-10164, 10165-10212, 10213-10262.

[00246] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на BST1 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой CAR BST1, перечисленные в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 10116-10164, 10165-10212, 10213-10262).

[00247] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых NECTIN-4-нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) (например, SEQ ID NO: 7028-7076, 11096-11242) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на NECTIN-4 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 4292, 9696). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на NECTIN-4, как раскрыто в данном документе, представлены SEQ ID NO: 7028-7076, 11096-11242.

[00248] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на NECTIN-4 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой CAR NECTIN-4, перечисленные в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 7028-7076, 11096-11242).

[00249] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых GPA33 нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) (например, SEQ ID NO: 10655-10703) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на GPA33 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 9698). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на GPA33, как раскрыто в данном документе, представлены SEQ ID NO: 10655-10703.

[00250] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на GPA33 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой CAR GPA33, перечисленные в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 10655-10703).

[00251] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых ROR1 нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) (например, SEQ ID NO: 1145-11193) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на ROR1 и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 9699). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на ROR1, как раскрыто в данном документе, представлены SEQ ID NO: 1145-11193.

[00252] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на ROR1 (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой CAR ROR1, перечисленные в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 11145-11193).

[00253] В одном из вариантов реализации эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CRIPTO нацеливающими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и like) (например, SEQ ID NO: 10508-10556) настоящего описания представляют собой scFv нацеленные на CRIPTO и имеющие SEQ ID как указано в таблице 3 (например, SEQ ID NO: 9697). В одном варианте осуществления эталонные scFv для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CRIPTO, как раскрыто в данном документе, представлены SEQ ID NO: 10508-10556.

[00254] В другом варианте осуществления эталонные CAR для исследований перекрестной конкуренции для определения целевых эпитопов, распознаваемых CAR, нацеленных на CRIPTO (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.), Описанные в этом раскрытии, представляют собой CRIPTO CAR, перечисленные в таблице 7 (например, SEQ ID NO: 10508-10556).

[00255] В некоторых вариантах реализации два или более функциональных домена CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), как описано в данном документе, разделены одним или несколькими линкерами. Линкеры представляют собой олиго- или полипептидные области длиной от примерно 1 до 100 аминокислот, которые связывают вместе любые из доменов/областей CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) от раскрытия. В некоторых вариантах осуществления линкеры могут иметь длину, например, 5-12 аминокислот, длину 5-15 аминокислот или длину 5-20 аминокислот (или любое целое число между ними). Линкеры могут состоять из гибких остатков, таких как глицин и серин, так что соседние белковые домены могут свободно перемещаться относительно друг друга. Более длинные линкеры, например, имеющие длину более 100 аминокислот, могут использоваться в связи с альтернативными вариантами осуществления настоящего изобретения и могут быть выбраны, например, для обеспечения того, чтобы два соседних домена не мешали друг другу стерически. SEQ ID NO нескольких примерных линкеров перечислены в таблице 5 (см., Например, SEQ ID NO: 4007-4012).

[00256] В некоторых вариантах реализации CAR (которые образуют часть остовов), описанные в настоящем документе, содержат шарнирную область между антигенспецифическим доменом и трансмембранным доменом. В некоторых вариантах реализации шарнирная область включает любой один или несколько из CD8 α человека или Fc-фрагмента антитела или его функционального эквивалента, фрагмента или производного, шарнирную область CD8 α человека или антитела или его функционального эквивалента, фрагмента или производного, область CH2 антитела, область CH3 антитела, последовательность искусственного спейсера и их комбинации. В примерных вариантах реализации шарнирная область включает любой один или несколько из (i) шарнирной области, области CH2 и CH3 IgG4, (ii) шарнирной области IgG4, (iii) шарнирной области и области CH2 IgG4, (iv) а шарнирная область CD8 α , (v) шарнирная область, область CH2 и

CH3 IgG1, (vi) шарнирная область IgG1, (vi) шарнирная область и область CH2 IgG1, или (vii) их комбинации.

[00257] Как описано в данном документе, описанные здесь CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) (которые образуют часть основных цепей) содержат трансмембранный домен. Трансмембранный домен может включать трансмембранную последовательность любого белка, который имеет трансмембранный домен, включая любой из трансмембранных белков типа I, типа II или типа III. Трансмембранный домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по настоящему описанию также может содержать искусственную гидрофобную последовательность. Трансмембранные домены CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), описанные в настоящем документе, могут быть выбраны так, чтобы трансмембранный домен не димеризовался. В некоторых вариантах воплощения CAR, кодируемый TMD (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), содержащий любой из описанных здесь остовов, включает трансмембранный домен, выбранный из трансмембранного домена альфа, бета- или дзета-цепь Т-клеточного рецептора, CD3ε, CD3ζ, CD3γ, CD3δ, CD28, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRP1), CD160, CD19, IL2R бета, IL2R гамма, IL7R α, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (тактильный), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/КБП, НКп44, НКп30, НКп 46, NKG2D и/или NKG2C.

[00258] Трансмембранный домен может включать одну или несколько дополнительных аминокислот, прилегающих к трансмембранной области, например, одну или несколько аминокислот, связанных с внеклеточной областью белка, из которого была получена трансмембрана (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10-15 аминокислот внеклеточной области) и/или одна или несколько дополнительных аминокислот, связанных с внутриклеточной областью белка, из которого происходит трансмембранный белок (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 до 15 аминокислот внутриклеточной области). В одном аспекте трансмембранный домен примыкает к одному из других доменов CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). В одном варианте трансмембранный домен может происходить из того же белка, из которого происходит сигнальный домен, костимулирующий домен или шарнирный домен. В другом аспекте трансмембранный домен не является производным того же белка, из которого происходит любой другой домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.).

[00259] Как описано в данном документе, описанные здесь CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) (которые образуют часть остовов) содержат

внутриклеточный сигнальный домен. Этот домен может быть цитоплазматическим и может передавать сигнал эффекторной функции и направлять клетку на выполнение своей специализированной функции. Примеры внутриклеточных сигнальных доменов включают, но не ограничиваются ими, ζ -цепь Т-клеточного рецептора или любой из его гомологов (например, η -цепь, FceRIv и β -цепи, цепь MB1 (Iga), цепь B29 (IgP) и т. Д.), Полипептиды CD3 (Δ , δ и ϵ), тирозинкиназы семейства syk (Syk, ZAP 70 и т. Д.), Тирозинкиназы семейства src (Lck, Fyn, Lyn и т. Д.) И другие молекулы, участвующие в трансдукции Т-клеток, такие как CD2, CD5 и CD28. Внутриклеточный сигнальный домен может быть дзета-цепью CD3 человека, Fc γ RIII, Fc ϵ RI, цитоплазматическими хвостами Fc-рецепторов, иммунорецепторным мотивом активации на основе тирозина (ITAM), несущим цитоплазматические рецепторы, или их комбинациями. Дополнительные внутриклеточные сигнальные домены будут очевидны специалистам в данной области техники и могут быть использованы в связи с альтернативными вариантами осуществления настоящего раскрытия. В некоторых вариантах реализации внутриклеточный сигнальный домен включает сигнальный домен одного или нескольких из дзета-цепей CD3 человека, Fc γ RIII, Fc ϵ RI, цитоплазматического хвоста рецептора Fc, иммунорецепторного тирозинового мотива активации (ITAM), несущего цитоплазматические рецепторы, и их комбинации.

[00260] Как описано в настоящем документе, описанные здесь CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) (которые образуют часть остовов) содержат костимулирующий домен. В примерных вариантах реализации костимулирующий домен содержит сигнальный домен из любого одного или нескольких из CD28, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40), Dap10, CD27, CD2, CD5, ICAM-1, LFA-1, Lck, TNFR-I, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 и их комбинации.

[00261] Расщепляемые линкеры, как описано в данном документе, включают линкеры 2A (например, T2A), 2A-подобные линкеры или их функциональные эквиваленты и их комбинации. В некоторых вариантах реализации линкеры включают пикорнавирусный 2A-подобный линкер, последовательности CHYSEL тешовируса свиньи (P2A), вируса Thea asigna (T2A) или их комбинации, варианты и функциональные эквиваленты. В других вариантах осуществления линкерные последовательности могут содержать мотив Asp-Val/Ile-Glu-X-Asn-Pro-Gly (2A) -Pro (2B), который приводит к расщеплению между 2A глицином и 2B пролином. Нуклеиновые последовательности нескольких примерных расщепляемых линкеров представлены в SEQ ID NO: 80 - SEQ ID NO: 85, а аминокислотные последовательности нескольких примерных линкеров представлены в SEQ ID NO: 4079 - SEQ ID NO: 4084. Другие линкеры будут очевидны специалистам в данной области техники и может использоваться в связи с альтернативными вариантами осуществления раскрытия. В одном из вариантов реализации мотив Ser-Gly-Ser-Gly (SGSG) (SEQ ID NO: 931-932 и SEQ ID NO: 4844-4845) также добавлен перед расщепляемыми линкерными последовательностями для повышения эффективности расщепления. Потенциальным недостатком расщепляемых

линкеров является возможность того, что небольшая метка 2А, оставленная на конце N-концевого белка, может влиять на функцию белка или вносить вклад в антигенность белков. Чтобы преодолеть это ограничение, в некоторых вариантах реализации сайт расщепления фурином (RAKR) (SEQ ID NO: 88-90 и 4087-4089) добавляется выше мотивов SGSG для облегчения расщепления остаточного пептида 2А после трансляции. В одном из вариантов осуществления расщепляемые линкеры помещают между полипептидом, кодирующим CAR, и полипептидом, кодирующим дополнительные модули. Расщепление на сайте расщепляемого линкера приводит к разделению двух полипептидов.

[00262] «Дополнительные модули» в контексте настоящего описания относятся к агентам, которые усиливают, снижают или модифицируют активность Т-клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) или снизить токсичность, связанную с CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), чтобы усилить терапевтический ответ CAR. Вспомогательный модуль также может усиливать перенос гена в и/или экспрессию кассеты, кодирующей CAR, в клетках-мишенях, например, в иммунной эффекторной клетке.

[00263] В некоторых вариантах реализации векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), могут дополнительно содержать полинуклеотиды, кодирующие вирусные и клеточные сигнальные белки, которые (i) распространяют продолжительность жизни Т-клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), (ii) стимулировать пролиферацию Т-клеток и/или (iii) защищать Т-клетки, экспрессирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) от апоптоза; (iv) усиление упаковки, переноса генов и/или экспрессии конструкций CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). В иллюстративных вариантах реализации такие белки включают, но не ограничиваются ими, vFLIP-K13 (SEQ ID NO (ДНК): 108; SEQ ID NO (PRT): 4107) из вируса герпеса, связанного с саркомой Капоши, и ВИЧ-1 Vif (SEQ ID NO: 118 и 4117).

[00264] В одном варианте осуществления векторы, кодирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), дополнительно кодируют vFLIP-K13. В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность vFLIP-K13 оптимизирована по кодонам. Типичный кодон-оптимизированный vFLIP K13, коэкспрессирующий CAR (т.е. SIR), представлен SEQ ID NO: 14057. В одном варианте осуществления векторы, кодирующие CAR, дополнительно кодируют ВИЧ-1 Vif. В альтернативном варианте осуществления векторы, кодирующие CAR, дополнительно кодируют как vFLIP K13, так и ВИЧ-1 Vif.

[00265] В некоторых вариантах реализации вспомогательный модуль кодируются векторами, которые отличаются от векторов, кодируемых CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), описанными в данном документе. В некоторых вариантах реализации эффекторные клетки, содержащие векторы, кодирующие CAR (например,

CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), также содержат векторы, кодирующие вспомогательный модуль. В некоторых вариантах реализации вспомогательный модуль кодируется путем модификации геномного локуса, кодирующего соответствующий эндогенный белок.

[00266] В некоторых вариантах реализации векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), дополнительно содержат полинуклеотиды, кодирующие siRNA или scFv, специфичные для цитокинов. В иллюстративных вариантах реализации цитокины представляют собой один или несколько из IL-10, IL-6, IFN или их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) коэкспрессируются с секретируемым фрагментом биспецифического антитела, который связывается с рецептором IL6 α и сывороточным альбумином человека. В некоторых вариантах осуществления CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) коэкспрессируются с секретируемым фрагментом scFv, который связывается с IL6. В некоторых вариантах осуществления ЦАР (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) являются коэкспрессируются с пептидом FX06 таким образом, чтобы смягчение капиллярным произойти утечка, связанный с CAR терапией.

[00267] В дополнительных вариантах реализации векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), дополнительно содержат полинуклеотиды, кодирующие siRNA или нуклеазу, нацеленную на эндогенные TCR- α , TCR- β , TCR- γ , TCR-дельта, CD3гамма, CD3зета, CD3эпсилон, CD3-дельта. В дополнительных вариантах реализации полинуклеотиды, кодирующие siRNA или нуклеазу, нацеленную на эндогенный TCR- α , TCR- β , TCR- γ , TCR-дельта, CD3гамма, CD3зета, CD3эпсилон, CD3-дельта, кодируются векторами, отличными от векторов, кодирующих CAR s (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.).

[00268] В дополнительных вариантах реализации векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), дополнительно содержат полинуклеотиды, кодирующие селективный маркер. В примерном варианте осуществления селектируемый маркер может кодировать ген устойчивости к лекарственному средству, такой как ген, который придает устойчивость к ингибиторам пуromицина или кальциневрина (например, CNB30). В некоторых вариантах реализации селектируемый маркер может кодировать внеклеточные и трансмембранные домены CD30, CD20, CD19 человека (SEQ ID NO: 96 и 4095), BCMA (SEQ ID NO: 97 и 4096), EGFR (SEQ ID NO: 95 и 4094), CD34 или любой белок или фрагмент белка, который экспрессируется на поверхности клетки и может быть распознан антителом, которое можно использовать для уничтожения клеток, экспрессирующих его антиген-мишень. В типичном варианте реализации цетуксимаб, моноклональный препарат против EGFR, используется для устранения CAR-экспрессирующих клеток по раскрытию, которые совместно экспрессируют усеченный EGFR. Селективный маркер (ы) можно

использовать для обогащения клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), для отбора клеток, экспрессирующих высокие уровни CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и/или для уменьшения клонального разнообразия клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и подобные). В дополнительных вариантах реализации полинуклеотиды, кодирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), могут кодировать теги эпитопа (например, тег Мус), которые экспрессируются во внеклеточном домене CAR. (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и могут использоваться для обогащения клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), для отбора клеток, которые экспрессируют высокие уровни CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и/или для уменьшения клонального разнообразия клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). Уменьшение клонального разнообразия аллогенных Т-клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), в свою очередь, приведет к снижению частоты возникновения болезни трансплантат против хозяина (GVHD), тем самым позволяет использовать аллогенные Т-клетки для терапии CAR-Т-клетками.

[00269] Следует отметить, что дополнительные модули являются необязательными для работы CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). Полипептид и полинуклеотиды ряда типичных конструкций CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) (т.е. остовов) в Таблице 6 и Таблице 7 содержат вспомогательный модули, такие как PAC, K13 и/или hNEMO-K277A-Flag. В альтернативных вариантах осуществления настоящего изобретения эти конструкции CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) можно использовать без присутствия дополнительных модулей и промежуточного расщепляемого лайнера (например, P2A или F2A или T2A).

[00270] В некоторых вариантах реализации раскрытие обеспечивает новую платформу синтетических иммунных рецепторов, обозначенных zSIR, содержащих две цепи CD3z. Последовательности нуклеиновых кислот цепей CD3z, которые можно использовать в конструировании zSIR, представлены в SEQ ID NO: 67 и 71. Соответствующие аминокислотные последовательности представлены в SEQ ID NO: 4066 и 4070 соответственно. В описании предусмотрено, что фрагмент vL антитела может быть присоединен к одной из двух цепей CD3z, а фрагмент vH может быть присоединен к другой цепи CD3z. Когда две такие цепи (например, vL-CD3z и vH-CD3z) совместно экспрессируются в одной и той же клетке, фрагменты vL и vH могут связываться со своим родственным антигеном и передавать сигнал Т-клетки. В частности, Т-клетки, экспрессирующие такой zSIR, при воздействии на линию клеток, экспрессирующих родственный антиген-мишень, могут активировать передачу сигналов NFAT, индуцировать продукцию IL2, способствовать пролиферации Т-клеток, способствовать активации Т-клеток и проявлять цитотоксичность. Экспрессия и активность zSIR могут быть дополнительно увеличены путем включения линкера между vL/vH и фрагментами

CD3z. В частности, домены IgCL (SEQ ID NO (ДНК): 28 и SEQ ID NO (PRT): 4027) и IgCH (SEQ ID NO (ДНК): 29 и SEQ ID NO (PRT): 4028), полученные из антител, служат в качестве полезных линкеров между фрагментами vL/vH и CD3z.

[00271] В другом варианте реализации костимулирующий домен также включен в цепь (и) CD3z zSIR. Примеры костимулирующих доменов включают костимулирующие домены 41BB и CD28. Цепи CD3z, содержащие костимулирующие домены 41BB и CD28, представлены в SEQ ID NO: 4076, 4078 и 4075, 4077, соответственно (таблица 5). В совокупности приведенные выше результаты обеспечивают новую платформу для адаптивной клеточной терапии, которая преодолевает некоторые конструктивные ограничения SIR, а также обеспечивает дополнительный подход к SIR.

[00272] Две описанные здесь цепи zSIR могут кодироваться одной полинуклеотидной цепью и транслироваться в одну полипептидную цепь, которая впоследствии расщепляется на разные белки. Две описанные здесь цепи zSIR могут быть экспрессированы с использованием двух различных промоторов и кодироваться двумя отдельными полинуклеотидными цепями. Две описанные здесь цепи zSIR могут кодироваться одним вектором. Две описанные здесь цепи zSIR могут кодироваться двумя разными векторами. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая zSIR, может содержать одну или несколько лидерных последовательностей (также известных как сигнальный пептид). В одном варианте осуществления каждой функциональной единице (например, антигенсвязывающему домену, связанному с цепью CD3z плюс линкер, расщепляемый Furine-SGSG) zSIR может предшествовать лидерная последовательность, которая направляет zSIR на поверхность клетки как трансмембрану типа I. белок. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен zSIR является внеклеточным. В некоторых вариантах реализации лидерная последовательность включает последовательность нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 1-4 и аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4000- SEQ ID NO: 4003. В некоторых вариантах реализации короткие последовательности нуклеиновой кислоты (3- 9 нуклеиновых кислот), содержащих сайты рестрикционных ферментов, расположены между различными субъединицами zSIR, например, между сигнальной последовательностью и антигенсвязывающим доменом zSIR или между связывающим антиген и цепью CD3z.

[00273] В настоящем документе предложены один или несколько полипептидов, кодируемых одной или несколькими молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) от 1 до 15 (таблица 1) или любой один или несколько из остовов 1-60, описанных в данном документе (Таблица 2).

[00274] В некоторых вариантах реализации, антиген-специфический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) специфичен к одному, двум, трем или более антигенам на мишени. клетки, такие как раковые клетки. Как описано здесь, в некоторых вариантах осуществления, каждый компонент CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, СФП и тому подобное) является непрерывным и в той же рамке считывания друг с другом компонентов т он CAR (например, CAR I, CAR II, SIR,

zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). В некоторых вариантах реализации, если CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), содержащий остов, содержит более одного антигенспецифического домена, каждый из антигенспецифических доменов является смежным и в та же рамка считывания, что и другие антигенспецифические домены в том же CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.).

[00275] В настоящем документе также представлены один или несколько полипептидов, кодируемых одной или несколькими молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими основную остовов-1, содержащую CAR I и K13-vFLIP, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации антиген-специфический домен CAR, содержащий основную остовов-1, специфичен для одного, двух, трех или более антигенов на клетках-мишенях, таких как раковые клетки. Как описано в данном документе, в некоторых вариантах осуществления каждый компонент CAR является смежным и находится в одной и той же рамке считывания с каждым другим компонентом CAR, содержащим основную остовов-1. В некоторых вариантах осуществления CAR, содержащий основную остовов-1, включает более одного антигенспецифического домена, каждый из антигенспецифических доменов является смежным и находится в той же рамке считывания, что и другие антигенспецифические домены в том же CAR.

[00276] В настоящем документе также представлены один или несколько полипептидов, кодируемых одной или несколькими молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими основную остовов-8, которая включает CAR II (CAR 2) и ВИЧ-1 Vif, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации антигенспецифический домен CAR, содержащий основную остовов-8, специфичен к одному, двум, трем или более антигенам на клетках-мишенях, таких как раковые клетки. Как описано в данном документе, каждый компонент CAR является смежным и находится в одной рамке считывания с другими компонентами CAR. В некоторых вариантах осуществления в CAR, включающем основную остовов-8, входит более одного антигенспецифического домена, каждый из антигенспецифических доменов является смежным и находится в той же рамке считывания, что и другие антигенспецифические домены в том же CAR.

[00277] В различных вариантах реализации полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15 (см., Таблица 1) или часть описанных здесь остовов, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, содержат два, три или более антигенспецифических домена.

[00278] В различных вариантах реализации полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15 (см., Таблица 1) или часть описанных здесь остовов, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, содержат два, три или более костимулирующих домена.

[00279] В различных вариантах реализации полипептиды, кодируемые молекулами

нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15 (см., Таблица 1) или часть описанных здесь остовов, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, содержат ноль, один, два, три или более доменов внутриклеточной сигнализации.

[00280] В различных вариантах реализации полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью остовов, описанных в настоящем документе, такие как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60 содержат один, два, три или более вирусных и/или клеточных сигнальных белка.

[00281] Последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие желаемые компоненты CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), описанные здесь, могут быть получены с использованием рекомбинантных методов, известных в данной области, такие как, например, скрининг библиотек из клеток, экспрессирующих молекулу нуклеиновой кислоты, получение молекулы нуклеиновой кислоты из вектора, который, как известно, включает ее, или путем выделения непосредственно из клеток и тканей, содержащих ее, с использованием стандартных методик. Альтернативно, интересующая нуклеиновая кислота может быть получена синтетически, а не клонирована.

[00282] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см. Таблицу 1) или являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген-специфический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) специфичны для мишени, как описано в таблице 3.

[00283] В одном варианте осуществления антигенспецифический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть, например CDR, из vL и vH фрагментов, ориентированных на этот антиген, чей SEQ ID NO : показан в таблице с 3 и 4.

[00284] В одном варианте осуществления антигенспецифический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть, например CDR, из vHH фрагментов, ориентированных на этот антиген.

[00285] В одном варианте реализации антигенспецифический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против целевого антигена представляет собой антигенсвязывающую часть неиммуноглобулина. остовов, нацеленный на этот антиген.

[00286] В одном варианте реализации антигенспецифический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть рецептора, который, как известно,

связывают этот антиген-мишень.

[00287] В одном варианте реализации антигенспецифический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть рецептора, который, как известно, связывают этот антиген-мишень.

[00288] В одном варианте реализации антигенсвязывающий специфический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть лиганда, которая связывает антиген.

[00289] В одном варианте реализации антигенспецифический домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) против антигена-мишени представляет собой антигенсвязывающую часть, например CDR, фрагментов vL и vH scFV, нацеленных на этот антиген, SEQ ID которых показан в таблице 3. SEQ ID NO CDR показаны в таблице 4.

[00290] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами кислой нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR из 1 до 15 (см., например, Таблицу 1), или являются частью описанных здесь остовов, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в которых антигенспецифический домен CAR имеет специфический цели, указанные в таблице 3.

[00291] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CD19.

[00292] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CD20.

[00293] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CD22.

[00294] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR

1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для ВСМА.

[00295] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для интегрин B7.

[00296] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для Her2.

[00297] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для TSHR.

[00298] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для PSMA.

[00299] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для MSLN.

[00300] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для EGFR viii.

[00301] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены

полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для DLL3.

[00302] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для нектин-4.

[00303] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для рецептора пролактина (PRLR).

[00304] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для Muc17.

[00305] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CD70.

[00306] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для рецептора пролактина CDH19.

[00307] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические

домены с ЦАР являются специфическими для CD16ORF54.

[00308] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для VISTA.

[00309] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для GPC3.

[00310] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для Muc5Ac.

[00311] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для FCRH5.

[00312] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для LYPD1.

[00313] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для EMR2.

[00314] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR

1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для GPNMB.

[00315] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для RNF43.

[00316] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CD44v6.

[00317] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для Robo4.

[00318] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для Her2.

[00319] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для HER3.

[00320] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для FOLR1.

[00321] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены

полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CLDN6.

[00322] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для MMP16.

[00323] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для UPK1B.

[00324] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для BMPR1B.

[00325] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для LybE.

[00326] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CD79b.

[00327] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические

домены с ЦАР являются специфическими для WISP1.

[00328] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для SLC34A2.

[00329] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для Liv1.

[00330] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для Cripto.

[00331] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для grA33.

[00332] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для ROR1.

[00333] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CLL1.

[00334] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR

1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для FLT3.

[00335] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для IL1RAP.

[00336] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для BST1.

[00337] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые являются частью CAR 1-15. (см, например, таблица 1), или являются часть остовов, описанной здесь, такими как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, в котором антиген-специфические домены с ЦАР являются специфическими для CD133.

[00338] В некоторых вариантах осуществления, при условии, здесь, являются полипептиды, кодируемые нуклеиновой кислоты, кодирующих молекул zSIRs, которые являются частью CARs 7-15 (см, например, таблица 1), отличающийся тем, что антиген-специфические домена являются специфическими для CD200R.

[00339] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD276.

[00340] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD324.

[00341] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CS1.

[00342] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-

специфические домены специфичны для ALK1.

[00343] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для ROR1.

[00344] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CDH6.

[00345] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CDH16.

[00346] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CDH17.

[00347] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для рецептора фолиевой кислоты бета.

[00348] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CLEC5A.

[00349] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для NY-ESO/MHC комплекс I класса.

[00350] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для WT1/MHC комплекс I класса.

[00351] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для AFP/MHC класса I. сложный.

[00352] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где

антигенспецифические домены специфичны для HPV16-E7/МНС комплекс I класса.

[00353] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для gp100/МНС комплекс I класса.

[00354] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для hTERT/МНС комплекс I класса.

[00355] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для MART1/МНС комплекс I класса.

[00356] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), при этом антигенспецифические домены специфичны для HTLV1-Tax/МНС комплекс I класса.

[00357] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для PR1/МНС комплекс I класса.

[00358] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны к HIV1-gag/МНС комплекс I класса.

[00359] В некоторых вариантах осуществления, при условии, здесь, являются полипептиды, кодируемые нуклеиновой кислоты, кодирующих молекул zSIRs, которые являются частью CARs 7-15 (см, например, таблица 1), отличающийся тем, что антигенспецифические домены являются специфическими для к ВИЧ - 1-конверт gp120.

[00360] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для РТК7.

[00361] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для TROP2.

[00362] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где

антигенспецифические домены специфичны для BAFF-R.

[00363] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для LAMP1.

[00364] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для Tim1.

[00365] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для TCR гамма-дельта.

[00366] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для константной цепи TCR бета1.

[00367] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для константной цепи TCR бета2.

[00368] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для GCC.

[00369] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для B7H4.

[00370] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для LHR.

[00371] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для Tn-Muc1.

[00372] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где

антигенспецифические домены специфичны для TSLPR.

[00373] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны к тканевому фактору.

[00374] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для SSEA-4.

[00375] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для SLea.

[00376] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для Muc1/MHC класса I. сложный.

[00377] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для Muc16.

[00378] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для NYBR-1.

[00379] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для IL13Ra2.

[00380] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для IL11Ra.

[00381] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для L1CAM.

[00382] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где

антигенспецифические домены специфичны для CLD18A2.

[00393] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для эпитопа CD43, экспрессируемого при лейкемии. клетки.

[00394] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD179a.

[00395] В некоторых вариантах реализации в настоящем документе представлены полипептиды, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими CAR 1-6 (см., Например, Таблицу 1), или являются частью остовов, описанных в настоящем документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32. или остовов-60, где антигенспецифический домен описан в таблице 3.

[00396] В некоторых вариантах реализации молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и/или дополнительные молекулы, описанные в настоящем документе, представлена в виде матричной РНК (мРНК) транскрипт. В другом варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая CAR и/или вспомогательный модуль, описанные в данном документе, представлена как конструкция ДНК.

[00397] Также предоставлены векторы, содержащие полинуклеотиды, описанные в данном документе. В некоторых вариантах реализации векторы представляют собой вирусные векторы. Примеры вирусных векторов включают, но не ограничиваются ими, ретровирус, аденовирус, аденоассоциированный вирус, лентивирус, вирус оспы, вектор вируса герпеса или вектор транспозона спящей красавицы. В различных вариантах осуществления настоящее описание включает ретровирусные и лентивирусные векторные конструкции, экспрессирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и вспомогательный модуль, которые могут быть напрямую трансдуцированы в клетку.

[00398] Раскрытие также включает конструкцию РНК, которая может быть напрямую трансфицирована в клетку. Способ создания мРНК для использования в трансфекции включает транскрипцию *in vitro* (IVT) матрицы со специально разработанными праймерами с последующим добавлением полиА для получения конструкции, содержащей 3 'и 5' нетранслируемые последовательности («UTR») (например, 3 'и/или 5' UTR, описанные в данном документе), 5 'кэп (например, 5' кэп, описанный в данном документе) и/или внутренний сайт входа в рибосомы (IRES) (например, IRES, описанный в данном документе), нуклеиновая кислота, которая выраженный, и хвост polyA, обычно 50-2000 оснований в длину. Полученная таким образом РНК может эффективно трансфицировать различные типы клеток. В одном

варианте осуществления матрица включает последовательности для CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). В одном из вариантов осуществления РНК-CAR или вектор CAR следующего поколения трансдуцируют в клетку, например, Т-клетку или НК-клетку, посредством электропорации. В другом варианте осуществления РНК-CAR или вектор CAR следующего поколения трансдуцируют в клетку, например, Т-клетку или НК-клетку, вызывая временные возмущения в клеточной мембране с использованием микрожидкостного устройства, как описано в патентной заявке WO 2013/059343 A1 (PCT/US2012/060646). Полинуклеотидные последовательности, кодирующие желаемые молекулы, могут быть получены с использованием рекомбинантных методов, известных в данной области, например, путем скрининга библиотек из клеток, экспрессирующих ген, путем получения гена из вектора, который, как известно, включает его, или путем выделения непосредственно из клеток и ткани, содержащие то же самое, с использованием стандартных методик. Альтернативно, интересующий ген можно получить синтетически, а не клонировать.

[00399] В раскрытии также представлены векторы, в которые вставлена ДНК, кодирующая CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию. Векторы, полученные из ретровирусов, таких как лентивирус, являются подходящими инструментами для достижения долгосрочного переноса гена, поскольку они позволяют долгосрочную стабильную интеграцию трансгена и его размножение в дочерних клетках. Лентивирусные векторы имеют дополнительное преимущество перед векторами, полученными из онко-ретровирусов, таких как вирусы лейкемии мышей, в том, что они могут трансдуктировать непролиферирующие клетки, такие как гепатоциты. Типичные лентивирусные векторы представлены в SEQ ID NO: 129-130 и 12639. Ретровирусный вектор также может быть, например, гаммаретровирусным вектором. Гаммаретровирусный вектор может включать, например, промотор, сигнал упаковки (ψ), сайт связывания праймера (PBS), один или несколько (например, два) длинных концевых повтора (LTR) и представляющий интерес трансген, например, ген, кодирующий CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). Типичные гаммаретровирусные векторы включают вирус лейкемии мышей (MLV), вирус, формирующий фокус селезенки (SFFV) и вирус миелопролиферативной саркомы (MPSV), и векторы, полученные из них. В другом варианте осуществления вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую желаемый CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию, представляет собой аденовирусный вектор (A5/35).

[00400] Экспрессия природных или синтетических нуклеиновых кислот, кодирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), обычно достигается путем функционального связывания нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) полипептида или их частей на промотор и включение конструкции в вектор экспрессии. Типичные лентивирусные векторы, кодирующие CAR по настоящему описанию, представлены в SEQ ID NO: 12640-41 и 14378, 14380-85. Векторы могут подходить для репликации и интеграции в

эукариотах. Типичные клонирующие векторы содержат терминаторы транскрипции и трансляции, иницирующие последовательности и промоторы, полезные для регуляции экспрессии желаемой последовательности нуклеиновой кислоты. Вектор может содержать один промотор или более одного промотора. В некоторых вариантах реализации две или более функциональных единиц CAR (например, нуклеотиды, кодирующие две функциональные полипептидные единицы SIR, zSIR или Ab-TCR) находятся под контролем отдельных промоторов. Экспрессионные конструкции по раскрытию также могут быть использованы для иммунизации нуклеиновой кислотой и генной терапии с использованием стандартных протоколов доставки генов. Способы доставки генов известны в данной области. См., Например, патент США No. №№ 5,399,346, 5,580,859, 5,589,466, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

[00401] Способы клонирования и экспрессии будут очевидны специалисту в данной области.

[00402] Физические методы введения полинуклеотидов в клетки-хозяева, такие как трансфекция фосфатом кальция и т.п., хорошо известны в данной области и будут очевидны специалисту в данной области. В другом варианте осуществления вектор CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) трансдуцируется в клетку, например, Т-клетку или НК-клетку, вызывая временные возмущения в клеточной мембраны с использованием микрожидкостного устройства, как описано в заявке на патент WO 2013/059343 A1 (PCT/US2012/060646) и в Ding X et al., Nat. Biomed. Eng. 1, 0039 (2017), содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте, как если бы оно изложено здесь.

[00403] В различных вариантах осуществления клетки для модификации CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.д.), описанные в данном документе, включая Т-клетки или НК-клетки, могут быть получены от субъекта, нуждающегося в лечении. Т-клетки могут быть получены из различных источников, включая моноклеарные клетки периферической крови, костный мозг, ткань лимфатических узлов, пуповинную кровь, плаценту, ткань тимуса, ткань из очага инфекции, асцит, плевральный выпот, ткань селезенки и опухоли. Т-клетки могут быть резидентными гамма-дельта-Т-клетками, которые можно культивировать и размножать *in vitro* до экспрессии CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.).

[00404] В одном аспекте в раскрытии представлен ряд CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), содержащих антигенсвязывающий домен (например, антитело или фрагмент антитела, TCR или фрагмент TCR), сконструированный для специфического связывания с ассоциированным с заболеванием антигеном, например опухолевым антигеном, описанным в данном документе. В одном аспекте в описании представлена иммунная эффекторная клетка (например, Т-клетка, NKT-клетка), сконструированная для экспрессии CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), в которой сконструированные иммунные эффекторные клетки проявляют терапевтические свойства. В одном аспекте в описании представлена иммунная

эффекторная клетка (например, Т-клетка, NKT-клетка), сконструированная для экспрессии CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), в которой сконструированные иммунные эффекторные клетки проявляют противораковые свойства. В одном варианте осуществления клетка трансформируется с помощью CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) экспрессируется на поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления клетка (например, Т-клетка, NKT-клетка) трансдуцируется вирусным вектором, кодирующим CAR (например, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). В некоторых вариантах реализации вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор представляет собой лентивирусный вектор. В некоторых таких вариантах осуществления клетка может стабильно экспрессировать CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). В другом варианте осуществления клетка (например, Т-клетка, NKT-клетка) трансфицируется нуклеиновой кислотой, например, мРНК, кДНК, ДНК, кодирующей CAR или CAR следующего поколения (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и подобные). В некоторых таких вариантах осуществления клетка может временно экспрессировать CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.).

[00405] В описании представлены иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, NKT или NK-клетки), которые сконструированы так, чтобы содержать один или несколько CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые направляют иммунные эффекторные клетки к больным клеткам или клеткам, связанным с заболеванием, таким как раковые клетки. Это достигается за счет антигенсвязывающего домена на CAR (например, SIR, zSIR, Ab-TCR, Tri-Tac, TFP и т.п.), который является специфичным для антигена, связанного с раком. Существует два класса антигенов, ассоциированных с раком (опухолевые антигены), на которые могут быть нацелены CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, Tri-Tac, TFP и т.п.) в раскрытии: (1) ассоциированные с раком антигены, которые экспрессируются на поверхности раковых клеток; и (2) антигены, ассоциированные с раком, которые сами по себе являются внутриклеточными, однако фрагмент такого антигена (пептид) представлен на поверхности раковых клеток посредством МНС (главного комплекса гистосовместимости).

[00406] Кроме того, в описании представлены CAR- (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) -экспрессирующие клетки и их использование в лекарственных средствах или способах лечения, среди других заболеваний, рака или любое злокачественное или аутоиммунное заболевание, или инфекционное заболевание, или дегенеративное заболевание, или аллергическое заболевание, вовлекающее клетки или ткани, которые экспрессируют опухолевый антиген или ассоциированный с заболеванием антиген, как описано здесь.

[00407] В одном аспекте в раскрытии представлена иммунная эффекторная клетка (например, Т-клетка, NKT или NK-клетка), сконструированная для экспрессии CAR или

CAR следующего поколения (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab- TCR, TFP и т.п.), где сконструированная эффекторная иммунная клетка проявляет свойство против заболевания, такое как противоопухолевое свойство. В одном варианте осуществления антиген представляет собой связанный с раком антиген (т.е. опухолевый антиген), описанный в настоящем документе. В одном аспекте антигенсвязывающий домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) включает частично гуманизированный фрагмент антитела. В одном аспекте антигенсвязывающий домен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) содержит частично гуманизированный scFv. Соответственно, в описании представлены CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), которые содержат гуманизированный антигенсвязывающий домен и встроены в клетку, например, Т-клетку или NK-клетки и способы их использования для адоптивной терапии.

[00408] Кроме того, в настоящем документе предусмотрены генно-инженерные клетки, содержащие полинуклеотиды и/или CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой Т-лимфоцит (Т-клетку). В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой наивные Т-клетки, центральные Т-клетки памяти, эффекторные Т-клетки памяти, регуляторные Т-клетки (Treg) или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой естественную киллерную (NK) клетку, гемопоэтическую стволовую клетку (HSC), эмбриональную стволовую клетку или плюрипотентную стволовую клетку. Генно-инженерные клетки, которые могут содержать и экспрессировать CAR согласно настоящему описанию, включают, но не ограничиваются ими, Т-лимфоциты (Т-клетки), наивные Т-клетки (TN), Т-клетки памяти (например, Т-клетки центральной памяти (ТКМ)), эффекторные клетки памяти (ТЕМ)), естественные клетки-киллеры, гемопоэтические стволовые клетки и/или плюрипотентные эмбриональные/индуцированные стволовые клетки, способные давать начало терапевтически релевантному потомству. В одном из вариантов осуществления генно-инженерные клетки представляют собой аутологичные клетки. В одном из вариантов осуществления генно-инженерные клетки представляют собой аллогенные клетки. В качестве примера отдельные Т-клетки по раскрытию могут быть CD4 + / CD8-, CD4- / CD8 +, CD4- / CD8- или CD4 + / CD8 +. Т-клетки могут представлять собой смешанную популяцию клеток CD4 + / CD8- и CD4- / CD8+или популяцию одного клона. CD4+Т-клетки по настоящему описанию могут продуцировать IL-2, IFN, TNF и другие эффекторные цитокины Т-клеток при совместном культивировании *in vitro* с клетками, экспрессирующими целевые антигены (например, опухолевые клетки CD20+и/или CD19 +). CD8+Т-клетки согласно настоящему описанию могут лизировать антиген-специфические клетки-мишени при совместном культивировании *in vitro* с клетками-мишенями. В некоторых вариантах реализации Т-клетки могут представлять собой одну или несколько из наивных CD45RA+CD62L +, центральных клеток памяти CD45RO+CD62L +, эффекторных клеток памяти CD62L или

их комбинации (Бергер и др., Адоптивный перенос вирус-специфических и опухолеспецифических Т клеточный иммунитет, Curr Opin Immunol, 2009, 21 (2) 224-232). Генетически модифицированные клетки могут быть получены путем стабильной трансфекции клеток ДНК, кодирующей CAR (например, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию.

[00409] Генно-инженерные клетки могут быть сконструированы таким образом, чтобы нокаутировать экспрессию эндогенных цепей TCR, *например* цепей TCR α , TCR β , TCR γ , TCR δ или пре-TCR α . Нокаут эндогенных цепей TCR α , TCR β , TCR γ , TCR δ или пре-TCR α может быть достигнут с использованием ряда методов, известных в данной области, таких как использование нуклеаз CRISP/Cas9 и Zn finger. В примерном варианте осуществления, gRNAs таргетинга TCR α и TCR β локусы могут быть введены в Т - клетки или iPSC или стволовых клеток вместе с мПНК cas9 выбить экспрессию эндогенных TCR α и TCR β ; цепей. Такие клетки, нокаутированные по TCR α/β , можно использовать для введения CAR согласно настоящему описанию. Т-клетка, лишенная функционального эндогенного TCR, может быть сконструирована так, чтобы она не экспрессировала какой-либо функциональный эндогенный TCR на своей поверхности, *например*, сконструирована так, чтобы она не экспрессировала одну или несколько субъединиц (*например*, константные цепи эндогенных TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ или пре-TCR α), которые содержат функциональный эндогенный TCR или сконструированы таким образом, что они продуцируют очень мало функциональных эндогенных TCR на своей поверхности. Альтернативно Т-клетка может экспрессировать существенно нарушенный эндогенный TCR, *например*, путем экспрессии мутированных или усеченных форм одной или нескольких субъединиц TCR. Термин «существенно нарушенный TCR» означает, что этот TCR не будет вызывать неблагоприятную иммунную реакцию у хозяина. В одном варианте осуществления аллогенная Т-клетка или аллогенная NKT-клетка лишены экспрессии или имеют низкую экспрессию функционального TCR и/или функционального HLA.

[00410] Различные способы получения стабильных трансфектантов, которые выражают ЦАР (например, CAR I, II, CAR, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и тому подобное) из disclosure. В одном варианте осуществления способ стабильной трансфекции и перенаправления клеток представляет собой электропорацию с использованием голый ДНК. Используя голую ДНК, время, необходимое для производства перенаправленных клеток, может быть значительно сокращено. Дополнительные методы генетической инженерии клеток с использованием голый ДНК, кодирующей CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию, включают, но не ограничиваются ими, методы химической трансформации (например, с использованием фосфата кальция, дендримеров, липосом и/или катионных полимеров), методы нехимической трансформации (например, электропорация, оптическая трансформация, электроперенос генов, временные возмущения в клеточных мембранах и/или гидродинамическая доставка) и/или методы на основе частиц (например, импалефекция с использованием

генной пушки и/или магнитофекции). Трансфицированные клетки, демонстрирующие присутствие единого интегрированного нереаранжированного вектора и экспрессию CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), могут быть размножены *ex vivo*. В одном варианте осуществления клетки, выбранные для размножения *ex vivo*, представляют собой CD8+ и демонстрируют способность специфически распознавать и лизировать антиген-специфические клетки-мишени.

[00411] Способы вирусной трансдукции также можно использовать для создания перенаправленных клеток, которые экспрессируют CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию. Типы клеток, которые могут быть использованы для создания генетически модифицированных клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по раскрытию, включают, но не ограничиваются ими, Т-лимфоциты (Т -клетки), естественные клетки-киллеры, гемопоэтические стволовые клетки и/или плюрипотентные эмбриональные/индуцированные стволовые клетки, способные давать начало терапевтически релевантному потомству.

[00412] Стимуляция Т-клеток антигеном в надлежащих условиях приводит к пролиферации (размножению) клеток и/или продукции IL-2. Клетки, содержащие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) по настоящему описанию, будут увеличиваться в количестве в ответ на связывание одного или нескольких антигенов с антиген-специфическим нацеливанием. области CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). В раскрытии также предложен способ создания и увеличения клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.). Способ включает трансфекцию или трансдукцию клеток вектором, экспрессирующим CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и стимуляцию клеток клетками, экспрессирующими целевые антигены, рекомбинантные целевые антигены, или антитело к рецептору, чтобы вызвать пролиферацию клеток, чтобы производить и увеличивать Т-клетки. В одном варианте осуществления, клетки могут быть любым одним или более из Т-лимфоцитов (Т-клетки), природные клетки-киллеры (NK) Т - клеток, гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) или плюрипотентных эмбриональных/индуцированных стволовых клеток, способные порождать терапевтически соответствующие потомство.

[00413] В некоторых вариантах реализации генно-инженерные клетки, описанные в настоящем документе, экспрессируют различные описанные в настоящем документе остовов, при этом компонент остовова CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) определяет цель специфичность на основе антигенспецифического домена CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.).

[00414] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR от 1 до 15 (см., Например, Таблицу 1), которые являются частью остовов, описанных в настоящем документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32. или остовов-60, где антиген-специфический домен CAR

специфичен к антигенной мишени в Таблице 3 и/или 7 и включает последовательности антигенсвязывающего домена, представленные в Таблице 3 и/или 7.

[00415] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для MPL.

[00416] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для MPL.

[00417] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для CD19.

[00418] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CD19.

[00419] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD20.

[00420] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CD20.

[00421] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для BCMA.

[00422] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для BCMA.

[00423] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD22.

[00424] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CD22.

[00425] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для BAFF-R.

[00426] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для BAFF-R.

[00427] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для интегрина В7.

[00428] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для нектина 4.

[00429] В одном из вариантов реализации генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью описанных здесь остовов, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для рецептора пролактина.

[00430] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для Muc17.

[00431] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD70.

[00432] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CD70.

[00433] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для VISTA.

[00434] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для GPC3.

[00435] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью

остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для GPC3.

[00436] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для EMR2.

[00437] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для EMR2.

[00438] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для gpNMB.

[00439] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для RNF43.

[00440] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для STEAP1.

[00441] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для Robo4.

[00442] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CLDN6.

[00443] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD44v6.

[00444] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для MMP16.

[00445] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для UPK1B.

[00446] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат

молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для BМРР1В.

[00447] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для Ly6E.

[00448] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD79b.

[00449] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CD79b.

[00450] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для WISP1.

[00451] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для Cripto.

[00452] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для gpA33.

[00453] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для IL1RAP.

[00454] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для BST1.

[00455] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CD133.

[00456] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для CD123.

[00457] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CD123.

[00458] В одном из вариантов реализации генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для CD138.

[00459] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CD138.

[00460] В одном из вариантов реализации генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для CLL1.

[00461] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR с 1 по 15, которые являются частью остовов, описанных в данном документе, таких как остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60, где антиген -специфический домен CAR является специфическим для CLL1.

[00462] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для константной цепи TCR-beta1.

[00463] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для константной цепи TCR-beta2.

[00464] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для ALK.

[00465] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для PTK7.

[00466] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для DLL3.

[00467] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15

(см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для TROP2.

[00468] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для Tim1.

[00469] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для LAMP1.

[00470] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для CS1.

[00471] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для Lym1.

[00472] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для Lym2.

[00473] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для TSHR.

[00474] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для NY-ESO/MHC комплекс I класса.

[00475] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для комплекса WT1/MHC класса I.

[00476] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для комплекса Ras/MHC класса I.

[00477] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CD179a.

[00478] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для CLD18A2.

[00479] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15

(см., Например, Таблицу 1), где антигенспецифические домены специфичны для эпитопа CD43, экспрессируемого на лейкозных клетках.

[00480] В одном варианте осуществления генно-инженерные клетки содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие zSIR, которые являются частью CAR 7-15 (см., Например, Таблицу 1), где антиген-специфические домены специфичны для гликопротеина gp120 оболочки ВИЧ1.

[00481] В одном варианте осуществления, генетически сконструированные клетки содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулы zSIRs, которые являются частью CARs 7-15 (см., например, таблица 1), отличающимся тем, что антиген-специфические домены являются специфическими для к Fc -области иммуноглобулина.

[00482] В одном варианте осуществления описанная здесь эффекторная клетка, экспрессирующая CAR, может дополнительно содержать вторую CAR, которая может включать другой антигенсвязывающий домен с той же или другой мишенью. В некоторых вариантах осуществления второй CAR может быть нацелен на тот же или другой тип соты, чем первый CAR. В некоторых вариантах осуществления второй CAR может относиться к тому же классу (т.е. от CAR 1 до CAR 15), что и первый CAR. В некоторых вариантах осуществления второй CAR относится к классу, отличному от первого CAR. В некоторых вариантах реализации второй CAR имеет ту же основа, что и первый CAR. В некоторых вариантах осуществления вторая CAR имеет другую остонов, чем первая CAR.

[00483] В одном варианте осуществления описанная здесь эффекторная клетка, экспрессирующая CAR (например, CAR 7-15), может дополнительно содержать другой класс CAR (например, CAR 1 или CAR 2 и т.д.) с тем же или другим антигенсвязывающим доменом, необязательно с той же или другой целью. В некоторых вариантах осуществления второй CAR (например, CAR 1, CAR 2 и т.д.) может нацеливаться на тот же или другой тип соты, чем первый CAR (например, CAR 7-15). В одном варианте осуществления CAR содержит целевой антигенсвязывающий домен, экспрессируемый на том же типе больных клеток (например, раковых), что и связанный с заболеванием антиген. В одном варианте осуществления клетка, экспрессирующая CAR (например, CAR 7-15, например, zSIR), содержит CAR, который нацелен на первый антиген, и второй антиген-специфический рецептор (например, CAR), который нацелен на второй, другой антиген, и включает внутриклеточный сигнальный домен, лишенный первичного сигнального домена, но содержащий костимулирующий сигнальный домен. Не желая ограничиваться теорией, размещение костимулирующего сигнального домена, например, 4-1BB, CD28, CD27 или OX-40, на антиген-специфическом рецепторе может модулировать активность CAR (например, CAR 7 -15, например, zSIR) на клетках, которые экспрессируют обе мишени. В одном варианте осуществления клетка, экспрессирующая CAR (например, CAR 7-15, например, zSIR), содержит i) CAR, который нацелен на первый ассоциированный с заболеванием антиген и включает один или несколько антигенсвязывающих доменов, которые связывают целевой антиген, описанный в данном документе, и ii) CAR, который нацелен на другой антиген-мишень

(например, антиген, экспрессируемый на том же типе клеток, связанных с заболеванием (например, рак), что и первый антиген-мишень), и включает антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и первичный сигнальный домен и костимулирующий домен. Последовательности нуклеиновых кислот и аминокислот типичной конструкции с этой конфигурацией показаны в SEQ ID NO: 14380 и SEQ ID NO: 16124 соответственно. Антигенсвязывающие домены SIR в этой конструкции состоят из фрагментов vL и vH, полученных из моноклонального антитела BCMAAm06, которое нацелено на BCMA, в то время как антигенсвязывающий домен CAR состоит из внеклеточного домена PD1. Первичный домен передачи сигналов CAR в этой конструкции состоит из цитозольного домена CD3z, а костимулирующий домен состоит из цитозольного домена 4-1BB. В другом варианте осуществления клетка, экспрессирующая CAR (например, CAR 7-15, например, zSIR), содержит: i) CAR, который связывает первый ассоциированный с заболеванием антиген и включает один или несколько антигенсвязывающих доменов, которые связывают антиген-мишень, как описано в настоящем документе. и ii) CAR, который нацелен на другой антиген-мишень (например, антиген, экспрессируемый на том же типе клеток, ассоциированных с заболеванием (например, рак), что и первый антиген-мишень), и включает антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и костимулирующий домен, но не первичный сигнальный или активационный домен. Последовательности нуклеиновой кислоты и аминокислот типичной конструкции с этой конфигурацией показаны в SEQ ID NO: 14379 и SEQ ID NO: 16123 соответственно. Эта конструкция аналогична конструкции, показанной в SEQ ID NO: 14380, за исключением того, что домен CD3z отсутствует в CAR. В еще одном варианте осуществления клетка, экспрессирующая CAR (например, CAR 7-15, например, zSIR), содержит i) CAR, который связывает первый ассоциированный с заболеванием антиген и включает один или несколько антигенсвязывающих доменов, которые связывают антиген-мишень, как описано в настоящем документе. и ii) CAR, который нацелен на другой антиген-мишень (например, антиген, экспрессируемый на том же типе клеток, ассоциированных с заболеванием (например, рак), что и первый антиген-мишень), и включает антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и первичный сигнальный домен, но не костимулирующий домен.

[00484] В одном варианте осуществления CAR содержит антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен (например, но не ограничиваясь этим, один или несколько внутриклеточных сигнальных доменов из 41BB, CD27, OX40, CD28, Dap10, CD2, CD5., ICAM-1, LFA-1, Lck, TNFR-1, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 или их комбинации) и/или первичный сигнальный домен (такой как, но не ограничиваясь этим, дзета-сигнальный домен CD3). Типичные SIR, коэкспрессирующие CAR, представлены в SEQ ID NO: 3217-3219 и SEQ ID NO: 3221 и 3222.

[00485] Иммунные эффекторный клетки, такие как Т-клетки и NK-клетки, содержащие CAR, как описано в настоящем документе, могут быть активированы и размножены, как правило, с использованием способов, как описано, например, в патентах

США 6,352,694; 6,534,055; 6 905 680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6 905 681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6 905 874; 6,797,514; 6,867,041; и публикация заявки на патент США № 20060121005.

[00486] В данном документе представлены способы лечения заболевания, связанного с экспрессией ассоциированного с заболеванием антигена или ассоциированного с раком антигена.

[00487] В одном варианте осуществления в настоящем документе представлены способы лечения заболевания у субъекта, который в этом нуждается, путем введения субъекту терапевтически эффективного количества генетически модифицированных клеток, описанных в данном документе (таких как Т-клетки, НК-клетки), которые сконструированы для экспрессии антиген-специфический CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) отдельно или антигенспецифический CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и вспомогательной молекулы, где антиген представляет собой специфический для заболевания антиген, как описано в данном документе, и где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют указанный специфический для заболевания антиген.

[00488] В одном варианте осуществления в настоящем документе представлены способы лечения рака у субъекта, который в этом нуждается, путем введения субъекту терапевтически эффективного количества генетически модифицированных клеток, описанных в данном документе (таких как Т-клетки, НК-клетки), которые сконструированы для экспрессии антиген-специфический CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Tri-Tac, Ab-TCR, TFP и т.п.) отдельно или антигенспецифический CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab -TCR, TFP и т.п.) и вспомогательной молекулы, где антиген представляет собой специфичный для рака антиген, как описано в данном документе, и где раковые клетки экспрессируют указанный опухолевый антиген.

[00489] В одном варианте реализации специфический раковый антиген экспрессируется как на нормальных клетках, так и на раковых клетках, но экспрессируется на более низких уровнях на нормальных клетках. В одном варианте осуществления способ дополнительно включает выбор CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), который связывает интересующий специфичный для рака антиген со сродством, которое позволяет антиген-специфическому CAR связывать и убивать раковые клетки. В некоторых вариантах реализации антигенспецифический CAR (*например*, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) убивает раковые клетки, но убивает менее 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% или менее нормальных клеток, экспрессирующих раковый антиген. В примерных вариантах осуществления процент клеток, убитых антигенспецифическими CAR, может быть определен с использованием анализов клеточной гибели (*например*, анализа Матадора), описанных здесь.

[00490] В некоторых вариантах осуществления изобретения изобретение относится к способам лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества генетически модифицированных

клеток (*например*, Т - клетки, NK - клетки), которые сконструированы для экспрессии обычных ЦАР 1-15, где ASD CAR является специфическим для антигена, который экспрессируется на раковых клетках (*например*, антиген экспрессируется на более низких уровнях на нормальных клетках по сравнению с раковыми клетками), и SEQ ID NO которого приведен в **таблице 3**.

[00491] я п некоторые из вариантов осуществления изобретение относится к способам лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества генетически модифицированных клеток (*например*, Т - клетки, NK - клетки), которые спроектированы, чтобы выразить остовов-1, включающий обычные CAR I и вспомогательный модуль K13-vFLIP, при этом ASD CAR является специфическим для антигена, который экспрессируется на раковых клетках (*например*, антиген экспрессируется на более низких уровнях на нормальных клетках по сравнению с раковыми клетками), SEQ ID NO которого приведен в **таблице 3**.

[00492] В некоторых вариантах осуществления изобретения изобретение относится к способам лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества генетически модифицированных клеток (*например*, Т - клетки, NK - клетки), которые спроектированы, чтобы включающий остовов -1 2, включающий обычные CAR I I и вспомогательный модуль HIV1-Vif, где ASD CAR специфичен к антигену, который экспрессируется на вызывающих заболевание или связанных с заболеванием клетках (*например*, антиген экспрессируется на более низких уровнях на нормальные клетки относительно раковых клеток).

[00493] В некоторых вариантах осуществления изобретения изобретение относится к способам лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества генетически модифицированных клеток (*например*, Т - клетки, NK - клетки), которые спроектированы, чтобы включающий остовов-32, содержащий обычный CAR II и вспомогательный модуль K13-vFLIP, где ASD CAR является специфическим для антигена, который экспрессируется на раковых клетках (*например*, антиген экспрессируется на более низких уровнях на нормальных клетках по сравнению с раковыми клетками).

[00494] В примерных вариантах реализации антигены, на которые могут быть нацелены терапевтические методы, описанные в настоящем документе, включают, но не ограничиваются ими, один, два, три, четыре или более из: CD19; CD5, CD123; CD22; CD30; CD171; CS1 (также обозначаемый как подмножество 1 CD2, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24); Лектин-подобная молекула-1 С-типа (CLL-1 или CLECL1); БАФФ-Р; CD33; вариант III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRviii); ганглиозид G2 (GD2); ганглиозид GD3 (aNeu5Ac (2-8) aNeu5Ac (2-3) bDGalp (1-4) bDGlc (II) Cer); Созревание В-клеток члена семейства рецепторов TNF (BCMA); Антиген Tn ((Tn Ag) или (GalNAc α -Ser/Thr)); простатоспецифический мембранный антиген (PSMA); Рецепторный тирозинкиназоподобный орфанный рецептор 1 (ROR1); Fms Like Tyrosine Kinase 3 (FLT3); Связанный с опухолью гликопротеин 72 (TAG72); CD38; CD44v6;

гликозилированный эпитоп CD43, экспрессируемый на остром лейкозе или лимфоме, но не на гематопоэтических предшественниках, гликозилированный эпитоп CD43, экспрессируемый на негематопоэтических раках, карциноэмбриональный антиген (CEA); Молекула адгезии эпителиальных клеток (EPCAM); B7H3 (CD276); КОМПЛЕКТ (CD117); Субъединица альфа-2 рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); Мезотелин; Рецептор интерлейкина 11 альфа (IL-11Ra); антиген стволовых клеток простаты (PSCA); Протеаза серин 21 (Testisin или PRSS21); рецептор 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2); Антиген Льюиса (Y); CD24; Рецептор тромбоцитарного фактора роста бета (PDGFR-бета); Стадийно-специфический эмбриональный антиген-4 (SSEA-4); CD20; Рецептор фолиевой кислоты альфа (FRa или FR1); Бета-рецептор фолиевой кислоты (FRb); Рецепторная тирозин-протеинкиназа ERBB2 (Her2/neu); Муцин 1, ассоциированный с клеточной поверхностью (MUC1); рецептор эпидермального фактора роста (EGFR); молекула адгезии нервных клеток (NCAM); Простаза; фосфатаза простатической кислоты (PAP); мутированный фактор элонгации 2 (ELF2M); Эфрин B2; белок активации фибробластов альфа (FAP); рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептор IGF-I), карбоангидраза IX (CAIX); Субъединица протеасомы (просома, макропаин), бета-тип, 9 (LMP2); гликопротеин 100 (gp100); слитый белок онкогена, состоящий из кластерной области точки разрыва (BCR) и гомолога 1 вирусного онкогена мышинового лейкоза Абельсона (Abl)(bcr-abl); тирозиназа; рецептор 2 эфрина типа A (EphA2); молекула адгезии сиалил-Льюиса (sLe); ганглиозид GM3 (aNeu5Ac (2-3) bDCIalp (1-4) bDGlcp (1-1) Cer); трансглутаминаза 5 (TGS5); антиген, связанный с высокомолекулярной меланомой (HMWMAA); о-ацетил-GD2 ганглиозид (OAcGD2); опухолевый эндотелиальный маркер 1 (TEM1/CD248); опухолевый эндотелиальный маркер 7, родственник (TEM7R); клаудин 6 (CLDN6); рецептор тиреотропного гормона (TSHR); G-протеиновый рецептор класса C, группа 5, член D (GPRC5D); открытая рамка считывания хромосомы X 61 (CXORF61); CD97; CD179a; киназа анапластической лимфомы (ALK); Полисиаловая кислота; специфичный для плаценты 1 (PLAC1); гексасахаридная часть гликокерамида globoH (GloboH); антиген дифференцировки молочной железы (NY-BR-1); уроплакин 2 (УПК2); Клеточный рецептор 1 вируса гепатита А (HAVCR1); адренорецептор бета 3 (ADRB3); паннексин 3 (PANX3); Рецептор 20, связанный с G-белком (GPR20); комплекс лимфоцитарного антигена 6, локус К 9 (LY6K); Обонятельный рецептор 51E2 (OR51E2); Белок альтернативной рамки считывания TCR гамма (TARP); Опухолевый белок Вильмса (WT1); Антиген 1 рака/яичка (NY-ES0-1); Антиген 2 рака/семенников (LAGE-1a); Ассоциированный с меланомой антиген 1 (MAGE-A1); Ген 6 варианта транслокации ETS, расположенный на хромосоме 12p (ETV6-AML); белок спермы 17 (SPA17); Семейство антигенов X, член 1A (XAGE1); рецептор 2 на поверхности клеток, связывающийся с ангиопоэтином (Tie 2); антиген-1 рака яичка меланомы (MAD-CT-1); антиген-2 рака яичка меланомы (MAD-CT-2); Fos-родственный антиген 1; опухолевый белок p53 (p53); мутант p53; простейин; сурвивин; теломераза; опухолевый антиген-1 карциномы простаты (PCT A-1 или галектин 8), антиген меланомы, распознаваемый Т-клетками 1 (MelanA или

MARTI); Мутант по саркоме крысы (Ras); обратная транскриптаза теломеразы человека (hTERT); контрольные точки транслокации саркомы; ингибитор меланомы апоптоза (ML-IAP); ERG (трансмембранная протеаза, слитый ген серина 2 (TMPRSS2) ETS); N-ацетилглюкозаминилтрансфераза V (NA17); парный бокс-белок Pax-3 (PAX3); Рецептор андрогенов; Cyclin B1; v- Мус птичьего myelocytomatosis вирусный онкоген нейробластомы получены гомолог (MYCN); Член семейства Ras Homolog C (RhoC); Родственный тирозиназе белок 2 (TRP-2); Цитохром P450 1B 1 (CYP1B 1); CCCTC-связывающий фактор (белок цинкового пальца) - подобный (BORIS или брат регулятора отпечатанных сайтов), антиген плоскоклеточной карциномы, распознаваемый Т-клетками 3 (SART3); Парный бокс-белок Pax-5 (PAX5); проакрозин- связывающий белок sp32 (OY-TES1); лимфоцит-специфическая протеинтирозинкиназа (LCK); Якорный белок киназы 4 (AKAP-4); синовиальная саркома, точка останова 2 по X (SSX2); Рецептор для конечных продуктов гликирования (RAGE-1); почечный повсеместный 1 (RUI); почечный повсеместный 2 (RU2); легумаин; вирус папилломы человека E6 (HPV E6); вирус папилломы человека E7 (HPV E7); кишечная карбоксилэстераза; мутировавший белок теплового шока 70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; Ассоциированный с лейкоцитами иммуноглобулиноподобный рецептор 1 (LAIR1); Fc-фрагмент рецептора IgA (FCAR или CD89); Лейкоцитарный иммуноглобулиноподобный рецептор подсемейства A, член 2 (LILRA2); Член семейства CD300, подобный молекуле (CD300LF); Член A семейства 12 лектиновых доменов C-типа (CLEC12A); антиген 2 стромальных клеток костного мозга (BST2); EGF-подобный модуль, содержащий муцин-подобный рецептор гормона, подобный 2 (EMR2); лимфоцитарный антиген 75 (LY75); Глипикан-3 (GPC3); Fc рецептор-подобный 5 (FCRL5); и иммуноглобулиновый лямбда-подобный полипептид 1 (IGLL1), MPL, биотин, метка эпитопа c-MYC, CD34, LAMP1 TROP2, GFRalpha4, CDH17, CDH6, NYBR1, CDH19, CD200R, SleA (CA19.9; антиген сиалила Льюиса); Фукозил-GM1, PTK7, gpNMB, CDH1-CD324, DLL3, CD276/B7H3, IL11Ra, IL13Ra2, CD179b-IGL11, TCRгамма- дельта, NKG2D, CD32 (FCGR2A), Tn ag, Tim1- / HVCR1, GM-CSF -альфа), TGFbetaR2,, Льюис Ag, ТКК-бета1 цепь, ТКК-бета2 цепь, TCR-гамма - цепь, TCR-дельта - цепь, ФИТЦ, Leutenizing рецептора гормона (LHR), фолликулостимулирующий гормон - рецептор (FSHR), рецептор гонадотропин гормон (CGHR или GR), CCR4, GD3, SLAMF6, SLAMF4, гликопротеин оболочки HIV1, HTLV1-Tax, CMV pp65, EBV-EBNA3c, KSHV K8.1, KSHV- gH, гемагглютинин гриппа А (HA), GAD, PDL1, Guanyly циклаза C (GCC), аутоантитело к десмоглеину 3 (Dsg3), аутоантитело к десмоглеину 1 (Dsg1), HLA, HLA-A, HLA-A2, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DM, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA-DQ, HLA-DR, HLA-G, IgE, CD99, Ras G12V, тканевый фактор 1 (TF1), AFP, GPRC5D, Claudin18.2 (CLD18A2 или CLDN18A.2), CLDN6, P- гликопротеин, STEAP1, Liv1, нектин-4, Cripto, MPL, gpA33, BST1/CD157, хлоридный канал с низкой проводимостью и антиген, распознаваемый антителом TNT.

[00495] В некоторых вариантах реализации антигенспецифические домены CAR содержат последовательности scFv, SEQ ID которых приведен в **таблице 3**.

[00496] В примерных вариантах реализации антигены, на которые могут быть нацелены терапевтические методы, описанные в настоящем документе, включают, но не ограничиваются ими, одну, две, три, четыре или более мишеней, описанных в таблице 3.

[00497] В описании также предложен способ, включающий введение молекулы CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), клетки, экспрессирующей молекулу CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) или клетка, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) к теме. В одном варианте реализации у субъекта имеется описанное здесь расстройство, например, у субъекта есть рак, инфекционное заболевание, аллергическое заболевание, дегенеративное заболевание или аутоиммунное заболевание, которое экспрессирует описанный здесь антиген-мишень. Еще в одном варианте реализации у субъекта повышен риск заболевания, описанного здесь, например, у субъекта повышен риск рака, инфекционного заболевания, аллергического заболевания, дегенеративного заболевания или аутоиммунного заболевания, которое экспрессирует описанный здесь антиген-мишень. В одном из воплощений субъектом является человек. В другом варианте субъектом является животное. В еще одном варианте осуществления субъект представляет собой животное-компаньон, такое как собака.

[00498] Раскрытие предоставляет способы лечения или профилактики заболевания, связанного с экспрессией ассоциированного с заболеванием антигена, описанного в данном документе.

[00499] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения представлены способы лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут дать начало иммунным эффекторным клеткам, которые сконструированы для экспрессии X-CAR, где X представляет собой ассоциированный с заболеванием антиген, как описано в данном документе, и где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют указанный X-антиген. Табе 11 предоставляет список различных антигенов и типичных заболеваний, которые можно предотвратить, подавить или лечить с использованием иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), нацеленных на эти антигены.

[004500] В одном варианте осуществления в описании представлены способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см. , например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные к различным антигенам, показанным в таблице 3, где ASD CAR состоящий из фрагментов vL и vH, SEQ ID которых перечислены в таблице 3.

[00501] В одном варианте реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем

предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см. , например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для CD19, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют CD19 и где ASD CD19-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном из вариантов реализации рак, подлежащий лечению, представляет собой острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, В-клеточную злокачественную опухоль, неходжкинскую лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома из мантийных клеток или множественная миелома. В одном из воплощений заболевание, которое необходимо лечить, представляет собой иммунное (например, волчанку, СКВ, ИТП и т.д.) или аллергическое заболевание.

[00502] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см. , например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для CD20, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют CD20 и при этом ASD CD20-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном из вариантов реализации рак, подлежащий лечению, представляет собой острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, В-клеточное злокачественное новообразование, неходжкинское лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома или лимфома из мантийных клеток. В одном из воплощений заболевание, которое необходимо лечить, представляет собой иммунное (например, волчанку, СКВ, ИТП и т.д.) или аллергическое заболевание.

[00503] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см. , например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для CD22, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют CD22 и где ASD CD22-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления рак, подлежащий лечению, представляет собой лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, В-клеточную злокачественную опухоль, неходжкинскую лимфому. , диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома или мантийно-клеточная лимфома. В одном из воплощений заболевание, которое необходимо лечить, представляет собой иммунное (например, волчанку, СКВ, ИТП и т.д.) или аллергическое заболевание.

[00504] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см., например, Таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для BCMA, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют BCMA и где ASD BCMA-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак, иммунное или аллергическое заболевание. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой злокачественное новообразование плазматических клеток или множественную миелому, или первичную эффузионную лимфому, или диффузную крупноклеточную лимфому. В одном из воплощений заболевание, которое необходимо лечить, представляет собой иммунное (например, волчанку, СКВ, ИТП и т.д.) или аллергическое заболевание.

[00505] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см., например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для MPL, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют MPL и где ASD MPL-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления рак, подлежащий лечению, представляет собой острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром.

[00506] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см., например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для BAFF-R, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют BAFF-R, и где ASD BAFF-R-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном из вариантов осуществления рак, подлежащий лечению, представляет собой хронический лимфоцитарный лейкоз, лимфому из клеток мантии, В клеточная лимфома и острый лейкоз.

[00507] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток

(например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см. , например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для IL13Ra2, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют IL13Ra2 и где ASD IL13Ra2-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном из вариантов реализации рак, подлежащий лечению, представляет собой опухоль головного мозга.

[00508] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см. , например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для CD79b, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют CD79b и при этом ASD CD79b-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления рак, подлежащий лечению, представляет собой острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, диффузный большой В -клеточная лимфома, лимфома из мантийных клеток, миелодиспластический синдром или множественная миелома. В одном из воплощений заболевание, которое необходимо лечить, представляет собой иммунное (например, волчанку, СКВ, ИТП и т.д.) или аллергическое заболевание.

[00509] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака, аутоиммунного или аллергического заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см. , например, таблица 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для Her2, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют Her2 и где ASD Her2-CAR состоит из vL и vH фрагментов, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном из вариантов реализации рак, подлежащий лечению, представляет собой рак груди или рак желудка.

[00510] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для мезотелина (MSLN), где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют MSLN и ASD MSLN-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном из вариантов реализации рак, подлежащий лечению, представляет собой мезотелиому, рак легких, рак поджелудочной железы, рак желудочно-

кишечного тракта или рак яичников.

[00511] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для TSHR, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют TSHR и где ASD TSHR-CAR состоит из vL и vH фрагментов, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления рак, подлежащий лечению, представляет собой рак щитовидной железы или Т-клеточный лейкоз/лимфому.

[00512] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для рецептора пролактина (PRLR), где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют PRLR и где ASD PRLR-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном из воплощений рак, подлежащий лечению, представляет собой рак груди или хромофобную почечно-клеточную карциному.

[00513] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для рецептора фолиевой кислоты 1 (FOLR1), где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют FOLR1 и где ASD FOLR1-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в Таблице 3. В одном из воплощений рак, подлежащий лечению, представляет собой рак яичников, рак легких, рак эндометрия или другие солидные опухоли.

[00514] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для PTK7, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют PTK7 и где ASD из PTK7-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой

меланому, рак легких или рак яичников.

[00515] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для DLL3, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют DLL3, и где ASD DLL3-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой меланому, рак легких или рак яичников.

[00516] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для EGFRviii, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют EGFRviii и где ASD EGFRviii -CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак мозга или рак легких или другие солидные опухоли.

[00517] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для PSMA, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют PSMA и где ASD PSMA-CAR состоит из vL и vH фрагментов, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак простаты.

[00518] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для UPK1B, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки

экспрессируют UPK1B и где ASD UPK1B-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак мочевого пузыря.

[00519] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для WISP1, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют WISP1. В одном варианте осуществления ASD WISP1-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте реализации рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой глиобластому или рак груди.

[00520] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для MMP16, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют MMP16. В одном варианте осуществления ASD MMP16-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой глиобластому, меланому, мелкоклеточный рак легкого или нейробластому.

[00521] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, NKT-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для BMPR1B, при этом вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют BMPR1B. В одном варианте осуществления ASD BMPR1B-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак простаты, рак груди или рак яичников.

[00522] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены

способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для SLC34A2, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют SLC34A2. В одном варианте осуществления ASD SLC34A2-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NO которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак легких, рак яичников или рак эндометрия.

[00523] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для grA33, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют grA33 и где ASD grA33-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак прямой кишки, рак яичников или рак эндометрия.

[00524] В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предлагаются способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для BST1, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют BST1 и где ASD BST1-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который нужно лечить или предотвращать, представляет собой рак крови.

[00525] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для CD133, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют CD133 и где ASD CD133-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое

необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак легких или рак мозга.

[00526] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для EMR2, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют EMR2 и где ASD EMR2-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой острый лейкоз, лимфому, рак груди и рак толстой кишки.

[00527] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для GPC3, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют GPC3 и где ASD GPC3-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак печени, рак груди и рак легких.

[00528] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для gpNMB, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют gpNMB и где ASD gpNMB-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой меланому, рак мозга, рак груди, рак легких и другие солидные опухоли.

[00529] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1,

остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для IL1RAP, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют IL1RAP, и где ASD IL1RAP -CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак или эндометриоз. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак печени, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак яичников и другие солидные опухоли.

[00530] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для нектин-4, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют нектин-4 и где ASD нектин-4-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак или эндометриоз. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак мочевого пузыря, рак почек, рак головы и шеи, рак яичников, рак груди, рак легких и другие солидные опухоли.

[00531] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для Cripto, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют Cripto, и где ASD Cripto-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак прямой кишки, рак яичников, рак эндометрия и другие солидные опухоли.

[00532] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для RNF43, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют RNF43 и где ASD RNF43-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте

осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак прямой кишки, рак груди, рак эндометрия и другие солидные опухоли.

[00533] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для ROR1, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют ROR1 и где ASD ROR1-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак крови, CLL и лимфому.

[00534] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для FLT3, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют FLT3, и где ASD FLT3-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который нужно лечить или предотвращать, представляет собой рак крови.

[00535] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, Таблицу 2), специфичные для CLL-1, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют CLL-1 и где ASD CLL-1-CAR состоит из фрагментов vL и vH, чьи SEQ ID NO перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который нужно лечить или предотвращать, представляет собой рак крови.

[00536] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для Robo4, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют Robo4. В одном варианте осуществления ASD Robo4-CAR состоит из фрагментов vL и

vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак почек, рак толстой кишки, рак груди или другую солидную опухоль.

[00537] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для CLDN6, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют CLDN6. В одном варианте осуществления ASD CLDN6-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак яичников, рак печени или другую солидную опухоль.

[00538] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для Muc5Ac, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют Muc5Ac. В одном варианте осуществления ASD Muc5Ac-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак поджелудочной железы, рак желудка, рак толстой кишки или другую солидную опухоль.

[00539] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для Muc17, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют Muc17. В одном варианте осуществления ASD Muc17-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак поджелудочной железы, рак желудка, рак

толстой кишки или другую солидную опухоль.

[00540] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для Ly6E, где вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием клетки экспрессируют Ly6E. В одном варианте осуществления ASD Ly6E-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое следует лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который следует лечить или предотвращать, представляет собой рак поджелудочной железы, рак груди, рак яичников, рак поджелудочной железы или другую солидную опухоль.

[00541] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для интегрина B7, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют интегрин B7. В одном варианте осуществления ASD интегрина B7-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак, который необходимо лечить или предотвращать, представляет собой неоплазму плазматических клеток или первичную лимфому с выпотом.

[00542] В одном варианте осуществления в раскрытии представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR 1-15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1, остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для STEAP1, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют STEAP1. В одном варианте осуществления ASD STEAP1-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном варианте осуществления рак желудка, рак предстательной железы или лимфому следует лечить или предотвращать.

[00543] В одном варианте реализации настоящего изобретения представлены способы лечения рака путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НКТ-клеток), которые сконструированы для экспрессии CAR с 1 по 15 (см., Например, Таблицу 1) или остовов (например, остовов-1,

остовов-2, остовов-32 или остовов-60) (см., например, таблицу 2), специфичные для Liv1, где вызывающие заболевание или связанные с заболеванием клетки экспрессируют Liv1. В одном варианте осуществления ASD Liv1-CAR состоит из фрагментов vL и vH, SEQ ID NOs которых перечислены в таблице 3. В одном варианте осуществления заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак. В одном из воплощений рак груди, рак простаты или солидная опухоль подлежит лечению или предотвращению.

[00544] Примеры злокачественных опухолей, рост которых можно подавить, включают злокачественные опухоли, обычно поддающиеся иммунотерапии. Неограничивающие примеры рака для лечения включают меланому (например, метастатическая злокачественная меланома), рак почек (например, светлоклеточная карцинома), рак простаты (например, гормонорезистентная аденокарцинома простаты), рак груди, рак толстой кишки и рак легких (например, немелкоклеточный рак). клеточный рак легкого). Кроме того, с помощью описанных здесь молекул можно лечить рефрактерные или рецидивирующие злокачественные новообразования. Наконец, доброкачественные заболевания, такие как эндометриоз, можно лечить с использованием CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), описанных в настоящем документе.

[00545] В иллюстративных вариантах реализации рак, лечатся описанными здесь способами, включает солидные опухоли, такие как саркомы, аденокарциномы и карциномы, различных систем органов, таких как опухоли печени, легких, груди, лимфоидных, желудочно-кишечных (например, толстой кишки), мочеполовые пути (например, клетки почек, уротелия), простата и глотка. Аденокарциномы включают злокачественные новообразования, такие как большинство видов рака толстой кишки, рак прямой кишки, почечно-клеточная карцинома, рак печени, немелкоклеточная карцинома легкого, рак тонкой кишки и рак пищевода. В одном из воплощений рак представляет собой меланому, например меланому на поздней стадии. Метастатические поражения вышеупомянутых видов рака также можно лечить или предотвращать с использованием способов и композиций, описанных в описании.

[00546] Примеры других видов рака, которые можно лечить, включают рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, кожную или внутриглазную злокачественную меланому, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки, рак анальной области, желудка, рак яичка, рак матки, рак маточных труб, рак эндометрия, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, рак пищевода, рак тонкий кишечник, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечников, саркома мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, хронические или острые лейкозы, включая острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарная лимфома, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, карцинома почек нижний таз,

новообразование центральной нервной системы (ЦНС), первичная лимфома ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль оси позвоночника, глиома ствола головного мозга, аденома гипофиза, саркома Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточная лимфома, экологические раковые образования, включая вызванные асбестом, и комбинации указанных видов рака. Лечение метастатического рака, например метастатического рака, который экспрессирует PD-L1 (Iwai et al. (2005) *Int. Immunol.* 17: 133-144), можно проводить с использованием описанных здесь молекул CAR. Кроме того, заболевание, связанное с экспрессией ассоциированного с раком антигена, как описано в данном документе, включает, но не ограничиваясь ими, например, атипичные и/или неклассические виды рака, злокачественные новообразования, предраковые состояния или пролиферативные заболевания, связанные с экспрессией ассоциированного с раком антигена, как описано в данном документе. Наконец, доброкачественные заболевания, такие как эндометриоз, можно лечить с помощью описанных здесь CAR. В некоторых вариантах реализации CAR-экспрессирующие Т-клетка или NKT-клетка, как описано в данном документе, снижает количество, количество, количество или процент клеток и/или раковых клеток по меньшей мере на 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% у субъекта с гематологическим раком или другим раком, связанным с ассоциированным с раком антигеном, как описано здесь, экспрессирующие клетки относительно к отрицательному контролю. В одном из воплощений субъектом является человек.

[00547] В одном аспекте изобретение относится к способу подавления роста заболевания (например, рака, аутоиммунного заболевания, инфекционного заболевания или аллергического заболевания или дегенеративного заболевания), включающему контактирование вызывающей заболевание или ассоциированной с заболеванием клетки с генетически модифицированной ячейкой раскрытия, выражающая CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) или CAR с дополнительными модулями (т.е. остовов 1-60; см. Таблицу 2) таким образом, что CAR-T активируется в ответ на антиген и нацелен на вызывающую заболевание или ассоциированную с заболеванием клетку, при этом рост вызывающей заболевание или ассоциированной с заболеванием клетки ингибируется. В одном аспекте раскрытие обеспечивает способ предотвращения заболевания, включающий введение пациенту с риском заболевания CAR или CAR следующего поколения (например, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.д.), экспрессирующих клетки или клетки, которые способны генерировать CAR-экспрессирующую клетку в соответствии с раскрытием, так что CAR-T активируется в ответ на антиген и нацелен на вызывающую заболевание или связанную с заболеванием клетку, где предотвращается рост вызывающей или связанной с заболеванием клетки. В одном аспекте заболевание представляет собой рак, инфекционное заболевание, иммунное заболевание, аллергическое заболевание или дегенеративное заболевание.

[00548] В одном аспекте заболевание представляет собой аутоиммунное

заболевание. В одном варианте аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД), очаговой алопеции, анкилозирующего спондилита, антифосфолипидного синдрома, аутоиммунной болезни Аддисона, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунного иммунного заболевания печени, аутоиммунного гепатита, аутоиммунного лимфопериодического синдрома. (АЛПС), аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура (АТФ), болезнь Бехчета, кардиомиопатия, глютенный спру-дерматит гепетиформный; Синдром хронической иммунной дисфункции и усталости (CFIDS), хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия (CIPD), рубцовый пемфигоид, болезнь холодного агглютенина, синдром гребня, болезнь Крона, болезнь Дегоса, ювенильный дерматомиозит, синдром эссенцитриматиброзного дерматомиозита, синдром эссенцитриматиброзной волчанки, Тиреоидит Хашимото, идиопатический легочный фиброз, идиопатическая тромбоцитопения ига (Г), IgA-нефропатия, инсулинозависимый сахарный диабет, юношеский хронический артрит (болезнь Стилла), ювенильный артрит, ювенильный артрит, множественный склероз, миастения, полиастения, полигландулярные синдромы, ревматическая полимиалгия, полимиозит и дерматозит, первичная агаммаглобулинемия, первичный билиарный цирроз, синдром ревматрита, псориазический артрит, прогрессирующий псориазный артрит, системный склероз, склероз, саркоидоз, также известный как системный склероз (псориаз) синдром (псориаз) (также известный как системный склероз) сдержанный человек на синдром системной красной волчанки (СКВ), артериита Такаясу, височного артериита/клеточного артериита, гигантского язвенного артериита, увеита, витилиго, гранулематоза Вегенера и любой их комбинации.

[00549] Варианты осуществления настоящего изобретения включают тип клеточной терапии, при котором эффекторные клетки (такие как Т-клетки и НК-клетки) или стволовые клетки, которые могут продуцировать эффекторные клетки, генетически модифицированы для экспрессии CAR, как описано в данном документе, и CAR- или CAR- (например, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.д.) -экспрессирующие Т-клетки или НКТ-клетки следующего поколения вводятся реципиенту, нуждающемуся в этом. Введенная клетка способна убивать опухолевые клетки реципиента. В различных аспектах иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, НКТ-клетки), вводимые пациенту или их потомству, сохраняются у пациента в течение по меньшей мере четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, десяти месяцев, одиннадцать месяцев, двенадцать месяцев, тринадцать месяцев, четырнадцать месяцев, пятнадцать месяцев, шестнадцать месяцев, семнадцать месяцев, восемнадцать месяцев, девятнадцать месяцев, двадцать месяцев, двадцать один месяц, двадцать два месяца, двадцать три месяца, два года, три года, четыре лет или пять лет после введения пациенту Т-клетки или НК-клетки.

[00550] Раскрытие также включает тип клеточной терапии, при которой иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, НК-клетки) модифицируются, например,

транскрибируемая *in vitro* РНК, для временной экспрессии CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и др.) или CAR с дополнительными модулями (например, остовов 1-60). Т-клетки или NKT-клетки вводятся нуждающемуся в этом реципиенту. Инфузированные клетки способны убивать клетки, связанные с заболеванием (например, опухолевые клетки или инфицированные вирусом клетки) реципиента. Таким образом, в различных аспектах, CAR или CAR-экспрессирующие иммунные эффекторные клетки следующего поколения (например, Т-клетки, NKT-клетки) сохраняются менее одного месяца, например, трех недель, двух недель, одной недели, после введения Т- или NK-клетки в пациент.

[00551] Раскрытие также включает тип клеточной терапии, при которой стволовые клетки (например, гемопоэтические стволовые клетки или лимфоидные стволовые клетки, или эмбриональные стволовые клетки, или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки) способны давать начало иммунным эффекторным клеткам (например, Т клетки или NK-клетки) модифицированы для экспрессии CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) или CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab -TCR, TFP и т.п.) с дополнительными модулями (например, остовов 1-60; см. Таблицу 2) и вводятся получателю, нуждающемуся в этом. Введенные стволовые клетки дают начало иммунным эффекторным клеткам (например, Т-клеткам или NKT-клеткам) после трансплантации реципиенту, которые (т.е. иммунные эффекторные клетки) способны убивать ассоциированные с заболеванием клетки реципиента. Таким образом, в различных аспектах иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, NKT-клетки), которые продуцируются у пациента после введения CAR- или CAR-экспрессирующих стволовых клеток следующего поколения, сохраняются у пациента в течение по меньшей мере одной недели, 2 недель, 3 недели, один месяц, два месяца, три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев, семь месяцев, восемь месяцев, девять месяцев, десять месяцев, одиннадцать месяцев, двенадцать месяцев, тринадцать месяцев, четырнадцать месяцев, пятнадцать месяцев, шестнадцать месяцев, семнадцать месяцев, восемнадцать месяцев, девятнадцать месяцев, двадцать месяцев, двадцать один месяц, двадцать два месяца, двадцать три месяца, два года, три года, четыре года, пять лет, десять лет или двадцать лет после введения генетически модифицированные стволовые клетки пациенту. Раскрытие также включает тип клеточной терапии, при которой стволовые клетки, способные давать иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки или NKT-клетки), модифицируются для экспрессии CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) или CAR с дополнительными модулями (например, остовов 1-60; см. Таблицу 2) и дифференцируются *in vitro* для образования иммунных эффекторных клеток, которые вводятся реципиенту, нуждающемуся в этом. Инфузированные иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки или NKT-клетки) после инфузии реципиенту способны убивать ассоциированные с заболеванием клетки реципиента. Таким образом, в различных аспектах иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, NK-клетки), которые вводятся пациенту, сохраняются в пациенте в течение по меньшей мере 1 дня, 2

дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней, 6 дней, одна неделя, 2 недели, 3 недели, один месяц, два месяца, три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев, семь месяцев, восемь месяцев, девять месяцев, десять месяцев, одиннадцать месяцев, двенадцать месяцев, тринадцать месяцев, четырнадцать месяцев, пятнадцать месяцев, шестнадцать месяцев, семнадцать месяцев, восемнадцать месяцев, девятнадцать месяцев, двадцать месяцев, двадцать один месяц, двадцать два месяца, двадцать три месяца, два года, три года, четыре года, пять лет, десять лет или двадцать лет.

[00552] Раскрытие также включает тип клеточной терапии, при которой регуляторные иммунные эффекторный клетки (например, TREG или CD25+T-клетки) модифицируются для экспрессии CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) или CAR с дополнительными модулями (например, остовов 1-60), нацеленные на конкретный антиген. Такой CAR-TREG вводят пациенту для подавления иммунного ответа против специфического антигена. CAR-TREG можно использовать для профилактики и лечения аутоиммунных заболеваний и для повышения иммунной толерантности.

[00553] Противоопухолевый иммунный ответ, вызываемый CAR или модифицированными CAR-модифицированными иммунными эффекторными клетками следующего поколения (например, Т-клетками, NKT-клетками), может быть активным или пассивным иммунным ответом, или, альтернативно, может быть вызван прямым иммунным ответом, или непрямым иммунным ответом. В одном аспекте, CAR или CAR-трансдуцированные CAR иммунные эффекторные клетки следующего поколения (например, Т-клетки, NK-клетки) проявляют специфическую провоспалительную секрецию цитокинов и сильную цитолитическую активность в ответ на больные клетки человека (например, раковые или инфицированные клетки), экспрессирующие ассоциированный с заболеванием антиген, как описано здесь, противодействует растворимому ассоциированному с заболеванием антигену, как описано в данном документе, опосредует уничтожение соседних клеток и опосредует регресс установленного заболевания человека, включая рак.

[00554] Раскрытие также включает тип клеточной терапии, при которой иммунные эффекторные клетки (например, Т - клетка и NK - Т - клетка) или стволовые клетки, способные давать начало иммунным эффекторным клеткам (например, Т - клетка и NK - Т - клетка), модифицируются для экспрессии CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) или CAR с помощью дополнительных модулей (например, скелетов 1-60) и такие клетки используются *ex vivo* для очистки костного мозга или гемопоэтических стволовых клеток периферической крови от связанных с заболеванием клеток (например, раковых клеток). Например, Т-клетки, экспрессирующие CD19-специфичный CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), совместно культивируют с образцом костного мозга или стволовых клеток периферической крови, взятым у пациента с острым лимфолейкозом или неходжкинская лимфома для уничтожения любых лейкозных или лимфомных клеток, присутствующих в костном мозге или препарате стволовых

клеток периферической крови. После подходящей продолжительности культивирования *in vitro* (*ex vivo*), которая может составлять от 6 часов до нескольких дней, очищенный образец костного мозга и периферической крови используется для аутотрансплантации пациенту.

[00555] Экспансия *ex vivo* гемопоэтических стволовых и клеток-предшественников была описана в патентах США No. № 5,199,942, который включен в настоящий документ посредством ссылки и может применяться к ячейкам раскрытия. Однако раскрытие не ограничивается каким-либо конкретным методом размножения клеток *ex vivo*, и можно использовать другие подходящие методы, известные в данной области. Вкратце, культура *ex vivo* и размножение гемопоэтических стволовых клеток включает: (1) сбор CD34+гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников у млекопитающего из периферической крови или эксплантатов костного мозга; и (2) размножение таких клеток *ex vivo*. В дополнение к факторам клеточного роста, описанным в патенте США No. В US 5199942 другие факторы, такие как *flt3-L*, *IL-1*, *IL-3* и лиганд *c-kit*, можно использовать для культивирования и размножения клеток.

[00556] В дополнение к использованию вакцины на основе клеток с точки зрения иммунизации *ex vivo*, в описании также представлены композиции и способы иммунизации *in vivo*, чтобы вызвать у пациента иммунный ответ, направленный против антигена.

[00557] В некоторых вариантах реализации клетки (такие как Т-клетки, НКТ-клетки), которые были генетически модифицированы полностью человеческим CAR или CAR следующего поколения, как раскрыто в настоящем документе, могут быть типом вакцины для иммунизации *ex vivo* и/или *in vivo*. терапия у млекопитающего (например, человека). Что касается иммунизации *ex vivo*, по крайней мере одно из следующего происходит *in vitro* до введения клетки млекопитающему: i) пролиферация клеток, ii) введение нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR, в клетки или iii) криоконсервация клетки. Процедуры *ex vivo* хорошо известны в данной области, например, как описано в патентах США No. № 5,199,942, включенный сюда в качестве ссылки.

[00558] В дополнение к использованию вакцины на основе клеток с точки зрения иммунизации *ex vivo*, в описании также представлены композиции и способы иммунизации *in vivo* для индукции иммунного ответа у пациента против антигена.

[00559] Способы мониторинга активности CAR-T-клеток при введении пациентам также описаны здесь. В некоторых вариантах реализации эти способы можно использовать для контроля побочных эффектов CAR-T-клеток, таких как синдром высвобождения цитокинов, синдром утечки капилляров и неврологические осложнения. В некоторых вариантах реализации способ включает введение ингибиторов тирозинкиназы, в частности киназы семейства *Src* и, в частности, киназы *Lck*. В одном варианте осуществления способ включает введение дазатиниба, перорального ингибитора низкомолекулярной тирозинкиназы (SFK) семейства *Abl* и *Src*, включая *p56Lck* (*Lck*) (Lee KC et al, *Leukemia* (2010) 24, 896-900). В одном варианте осуществления ингибитор

киназы Src вводится пациенту после введения клеток, экспрессирующих CAR, для контроля или прекращения активности клеток, экспрессирующих CAR. В одном варианте осуществления ингибитор Lck вводят пациенту после введения CAR-экспрессирующих клеток для контроля или прекращения активности CAR-экспрессирующих клеток. В одном из вариантов реализации ингибитор Lck представляет собой A-770041.

[00560] В одном из вариантов реализации дазатиниб вводят пациенту после введения CAR-экспрессирующих клеток для контроля или прекращения активности CAR-экспрессирующих клеток. В одном варианте дазатиниб вводят перорально в дозе по меньшей мере 10 мг/день, 20 мг/день, 40 мг/день, 60 мг/день, 70 мг/день, 90 мг/день, 100 мг/день, 140 мг/сут, 180 мг. / день, 210 мг/день, 250 мг/день или 280 мг/день.

[00561] В одном из вариантов реализации Понатиниб вводят пациенту после введения CAR-экспрессирующих клеток для контроля или прекращения активности CAR-экспрессирующих клеток. В одном из воплощений понатиниб вводят перорально в дозе по меньшей мере 15 мг/день, 30 мг/день, 45 мг/день, 60 мг/день.

[00562] Т-лимфоциты имеют ограниченную репликативную продолжительность жизни до тех пор, пока они не достигнут терминально дифференцированного состояния, а затем вступают в фазу репликативного старения из-за прогрессирующей потери теломер с возрастом. Человеческие Т-лимфоциты демонстрируют ограниченную продолжительность жизни примерно 30-50 удвоений популяции при культивировании *in vitro*.

[00563] Кроме того, здесь рассматриваются способы стимулирования выживания и пролиферации моноклеарных клеток периферической крови и Т-клеток и предотвращения их репликативного старения для увеличения продолжительности жизни иммунных клеток (например, лимфоцитов и NK-клеток) для адоптивной клеточной терапии. Метод предполагает эктопическую экспрессию вирусных и/или клеточных белков, которые способствуют выживанию и пролиферации и блокируют гибель клеток, вызванную активацией. Примеры белков, подходящих для этой цели, включают вирусный ингибирующий белок FLICE (vFLIP) K13, кодируемый вирусом герпеса, ассоциированным с саркомой Капоши (также известный как вирус герпеса человека 8). В некоторых вариантах осуществления указанные выше вирусные и клеточные белки экспрессируются в иммунных клетках (например, Т-клетках и NK-клетках) в их естественном состоянии или несут небольшие эпитопные метки и являются функционально активными конститутивным образом. В других вариантах осуществления указанные выше вирусные и клеточные белки экспрессируются в иммунных клетках (например, Т-клетках и NK-клетках) в слиянии с одной или несколькими копиями переключающего домена (или домена димеризации), такого как FKBP и FKBPx2. В другом варианте осуществления домен FKBP или FKBP-x2 может дополнительно нести N-концевое миризотилирование (последовательность Мейера) для закрепления слитых белков на клеточной мембране. Слитые белки, несущие коммутационные домены, функционально неактивны в своем базальном состоянии, но активируются добавлением

димеризатора, такого как AP20187, как описано в PCT/US2017/024843, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

[00564] Кроме того, в этом документе рассматриваются способы стимуляции опосредованной лентивирусами трансдукции и/или экспрессии чужеродного гена и/или кДНК. Метод включает экспрессию белка ВИЧ1-Vif. В некоторых вариантах реализации белок Vif кодируется в том же векторе, что и чужеродный ген и/или кДНК. В некоторых вариантах реализации белок Vif кодируется в векторе, отличном от чужеродного гена/кДНК. Примерный чужеродный ген/кДНК, передача и/или экспрессия которых может быть усилена совместной экспрессией с белком Vif ВИЧ1, включает CAR (например, CAR I, II, CAR, SIR, zSIR, Ab-TCS), рекомбинантный TCR, глобин, и аденозиндезаминаза и т.д. В некоторых вариантах осуществления совместная экспрессия белка Vif ВИЧ1 может использоваться для стимуляции опосредованной лентивирусами трансдукции и/или экспрессии любого кодируемого гена/кДНК или фрагмента нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации белок Vif ВИЧ1 кодируется в том же векторе, что и интересующий ген/кДНК. Типичный вектор, кодирующий CAR и коэкспрессирующий белок Vif ВИЧ1, показан в SEQ ID NO: 11268. Типичные кассеты нуклеиновых кислот, кодирующие CAR и ВИЧ Vif, показаны в SEQ ID NO: 11244-11267. В некоторых вариантах реализации белок Vif ВИЧ1 кодируется в другом векторе, что и интересующий ген/кДНК. Белок Vif ВИЧ1 можно использовать для усиления переноса/экспрессии гена в любой клетке млекопитающего. В некоторых вариантах реализации белок Vif ВИЧ1 используется для усиления переноса/экспрессии гена в моноклеарных клетках периферической крови, Т-клетках, НК-клетках, НКТ-клетках, В-клетках, гемопоэтических стволовых клетках, индуцированных плюрипотентных стволовых клетках, клетках печени, клетках мозга или коже клетки. Белок Vif ВИЧ1 можно использовать для усиления переноса/экспрессии гена в

[00565] В одном из вариантов реализации иммунная эффекторная клетка, например Т-клетка, эктопически экспрессирует один или несколько вирусных или клеточных сигнальных белков, выбранных из группы K13-vFLIP (SEQ ID NO: 4107), MC159 (SEQ ID NO: 4108), cFLIP-L/MRIT-alpha (SEQ ID NO: 4109), cFLIP-p22 (SEQ ID NO: 4110), HIV1-Vif (SEQ ID NO: 4117), HTLV1-TAX (SEQ ID NO: 4113), HTLV2-TAX (SEQ ID NO: 4114), HTLV2-TAX-RS (SEQ ID NO: 4115) или белок с 70-99% идентичностью аминокислотным последовательностям вышеуказанных белков.

[00566] В одном из вариантов реализации иммунная эффекторная клетка, например Т-клетка, эктопически экспрессирует слитый белок, содержащий один или несколько переключающих доменов, например FKBP, FKBPx2 или Myr-FKBP, и один или несколько выбранных вирусных или клеточных сигнальных белков. из группы K13-vFLIP (SEQ ID NO: 4107), MC159 (SEQ ID NO: 4108), cFLIP-L/MRIT-alpha (SEQ ID NO: 4109), cFLIP-p22 (SEQ ID NO: 4110), HIV1 -Vif (SEQ ID NO: 4117), HTLV1-TAX (SEQ ID NO: 4113), HTLV2-TAX (SEQ ID NO: 4114), HTLV2-TAX-RS (SEQ ID NO: 4115).

[00567] В некоторых аспектах это раскрытие обеспечивает способ получения

иммунной эффекторной клетки, подходящей для адоптивной клеточной терапии, включающий контактирование клетки с нуклеиновой кислотой, частично или полностью кодирующей один или несколько вирусных или клеточных сигнальных белков, выбранных из группы K13-vFLIP (SEQ ID NO: 4107), MC159 (SEQ ID NO: 4108), cFLIP-L/MRIT-alpha (SEQ ID NO: 4109), cFLIP-p22 (SEQ ID NO: 4110), HIV1-Vif (SEQ ID NO: 4117), HTLV1-TAX (SEQ ID NO: 4113), HTLV2-TAX (SEQ ID NO: 4114), HTLV2-TAX-RS (SEQ ID NO: 4115) или белки с 70-99% идентичностью аминокислотным последовательностям вышеуказанных белков.

[00568] В некоторых аспектах это раскрытие обеспечивает способ получения иммунной эффекторной клетки, подходящей для адоптивной клеточной терапии, включающий контактирование клетки с нуклеиновой кислотой, кодирующей слитый белок, содержащий один или несколько доменов переключения, например, FKBP, FKBPx2 или Myr -FKBP, и один или несколько вирусных или клеточных сигнальных белков выбран из группы K13-vFLIP (SEQ ID NO: 4107), MC159 (SEQ ID NO: 4108), cFLIP-L/MRIT-alpha (SEQ ID NO: 4109), cFLIP-p22 (SEQ ID NO: 4110), HIV1-Vif (SEQ ID NO: 4117), HTLV1-TAX (SEQ ID NO: 4113), HTLV2-TAX (SEQ ID NO: 4114), HTLV2-TAX. - RS (SEQ ID NO: 4115) или белки с 70-99% идентичностью аминокислотным последовательностям вышеуказанных белков.

[00569] В одном из вариантов реализации клетка, подходящая для адоптивной клеточной терапии, экспрессирует естественный или синтетический иммунный рецептор. Примеры таких иммунных рецепторов включают рецептор химерного антигена (CAR), Т-клеточный рецептор (TCR), химерный Т-клеточный рецептор (сTCR), синтетический Т-клеточный рецептор, слитый белок TCR (TFP), Ab-TCR и синтетический рецептор notch. В одном варианте осуществления клетка может контактировать с нуклеиновой кислотой, кодирующей вирусные и клеточные сигнальные белки, до, одновременно или после контакта с конструкцией, кодирующей природный или синтетический иммунный рецептор. В одном из вариантов осуществления клетка может контактировать с нуклеиновой кислотой, кодирующей вирусные и клеточные сигнальные белки, содержащие домен переключения или димеризации, до, одновременно или после того, как она будет контактировать с конструкцией, кодирующей природный или синтетический иммунный рецептор.

[00570] В одном аспекте в раскрытии описан способ создания популяции иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток, НК-клеток). В одном варианте осуществления способ включает: предоставление популяции эффекторных иммунных клеток (например, Т-клеток или НК-клеток), контактирование популяции иммунных эффекторных клеток с нуклеиновой кислотой, кодирующей иммунный рецептор (например, CAR, TCR, синтетический TCR) и контактирование популяции иммунных эффекторных клеток с нуклеиновой кислотой, кодирующей вирусный или клеточный сигнальный белок, в условиях, которые допускают совместную экспрессию иммунного рецептора и вирусного или клеточного сигнального белка.

[00571] В одном из вариантов реализации нуклеиновая кислота, кодирующая вирусный или клеточный сигнальный белок, представляет собой ДНК. В одном из вариантов осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая вирусный или клеточный сигнальный белок, содержит промотор, способный управлять экспрессией вирусных и клеточных сигнальных белков. В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая вирусный или клеточный сигнальный белок, и нуклеиновая кислота, кодирующая иммунный рецептор, экспрессируются из одного и того же вектора. В одном из вариантов осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая вирусный или клеточный сигнальный белок, и нуклеиновая кислота, кодирующая иммунный рецептор, экспрессируются из отдельных векторов. В одном из вариантов реализации нуклеиновая кислота, кодирующая вирусный или клеточный сигнальный белок (субъединица 1), и нуклеиновая кислота, кодирующая иммунный рецептор (субъединица 2), экспрессируются из одного и того же полинуклеотидного фрагмента, содержащего внутренний сайт входа в рибосомы (IRES), который делает возможной трансляцию второй субъединицы. В одном из вариантов осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая вирусный или клеточный сигнальный белок (субъединица 1), и нуклеиновая кислота, кодирующая иммунный рецептор (субъединица 2), экспрессируется из одного кодирующего полинуклеотидного фрагмента, а различные субъединицы разделены расщепляемым линкером.

[00572] В одном из вариантов реализации нуклеиновая кислота, кодирующая вирусный или клеточный сигнальный белок, представляет собой транскрибируемую *in vitro* РНК. В одном из вариантов осуществления вирусный или клеточный сигнальный белок (субъединица 1) и иммунный рецептор (субъединица 2) экспрессируются с одной и той же РНК, содержащей внутренний сайт входа в рибосомы (IRES), который делает возможной трансляцию второй субъединицы. В одном из вариантов реализации вирусный или клеточный сигнальный белок (субъединица 1) и иммунный рецептор (субъединица 2) экспрессируются с помощью одной РНК, а разные субъединицы разделены расщепляемыми линкерами.

[00573] В одном из вариантов реализации нуклеиновая кислота, кодирующая клеточный сигнальный белок, представляет собой геномную копию указанного белка, которая активируется активацией его промотора генетическими или химическими способами.

[00574] Терапевтические способы, описанные в данном документе, включают использование композиций, содержащих генетически модифицированные клетки, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), описанные в настоящем документе. В различных вариантах осуществления описанные здесь терапевтические методы могут быть объединены с существующими терапиями и агентами. Описанные здесь терапевтические композиции, содержащие генетически модифицированные клетки, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), описанные здесь, вводят субъекту по меньшей мере с одним дополнительная известная терапия или

терапевтический агент. В некоторых вариантах реализации описанные здесь композиции и дополнительные терапевтические или терапевтические агенты вводятся последовательно. В некоторых вариантах реализации описанные здесь композиции и дополнительные терапевтические или терапевтические агенты вводятся одновременно. Оптимальный порядок введения описанных здесь композиций и существующих методов лечения будет очевиден для специалиста в данной области, такого как врач.

[00575] CAR или CAR-экспрессирующие клетки следующего поколения, описанные в данном документе, и по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент можно вводить одновременно, в одной или в отдельных композициях или последовательно. Для последовательного введения CAR-экспрессирующая клетка, описанная в настоящем документе, может быть введена первой, а дополнительный агент может быть введен вторым, или порядок введения может быть изменен.

[00576] Комбинированные методы лечения можно вводить субъекту на протяжении болезни. Продолжительность заболевания включает от постановки диагноза до завершения лечения, при этом лечение приводит к уменьшению симптомов и/или устранению симптомов. В различных вариантах осуществления эффект двух обработок может быть частично аддитивным, полностью аддитивным или более сильным, чем аддитивный. Доставка может быть такой, что эффект от первого введенного лечения все еще будет обнаруживаться при введении второго.

[00577] CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) терапия и/или другие терапевтические агенты, процедуры или способы можно вводить в периоды активного расстройства или во время период ремиссии или менее активного заболевания. CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) можно назначать до другого лечения, одновременно с лечением, после лечения или во время ремиссии расстройства.

[00578] При введении в комбинации, CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) терапия и дополнительный агент (например, второй или третий агент) или все они могут вводить в количестве или дозе, которые выше, ниже или такие же, чем количество или дозировка каждого агента, используемого индивидуально, например, в качестве монотерапии. В некоторых вариантах реализации вводимое количество или дозировка CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) терапии, дополнительного агента (например, второго или третьего агента) или всего, ниже (например, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50%), чем количество или дозировка каждого агента, используемого индивидуально, например, в качестве монотерапии. В других вариантах осуществления количество или дозировка CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) терапии, дополнительного агента (например, второго или третьего агента) или всего, который приводит к желаемому эффекту (например, лечению рака), ниже (например, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере

на 50% ниже), чем количество или дозировка каждого агента, используемого индивидуально, например, как монотерапия, необходимая для достижения такого же терапевтического эффекта.

[00579] Дополнительные аспекты способа относятся к введению субъекту эффективного количества клетки, например, эффекторной иммунной клетки или ее популяции, каждая клетка содержит CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab- TCR, TFP и т.п.), необязательно в комбинации с агентом, повышающим эффективность и/или безопасность иммунной клетки. В дополнительных аспектах агент, который увеличивает эффективность и/или безопасность иммунной клетки, представляет собой одно или несколько из: (i) ингибитора протеинфосфатазы; (ii) ингибитор киназы; (iii) цитокин; (iv) ингибитор иммунной ингибирующей молекулы; или (v) агент, снижающий уровень или активность клетки TREG; vi) агент, который увеличивает пролиферацию и/или устойчивость CAR-модифицированных клеток vii) хемокин viii) агент, который увеличивает экспрессию CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.) ix) агент, который позволяет регулировать экспрессию или активность CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), x) агент, который позволяет контролировать выживаемость и/или персистентность CAR-модифицированных клеток, xi) агент, который контролирует побочные эффекты CAR-модифицированных клеток, xii) ингибитор Brd4, xiii) агент, который доставляет терапевтическое (например, sHIVEM) или профилактическое средство к месту поражения заболевание, xiv) агент, который увеличивает экспрессию антигена-мишени, против которого направлен CAR (например, CAR I, CAR II, SIR, zSIR, Ab-TCR, TFP и тому подобное); xv) антагонист рецептора аденозина A2a; xvi) агент, разрушающий моноциты и/или макрофаги; xvii) этопозид

[00580] В некоторых вариантах реализации, генетически модифицированные клетки, описанные в настоящем документе, могут использоваться в схеме лечения в сочетании с хирургическим вмешательством, химиотерапией, облучением, иммунодепрессантами, такими как циклоспорин, азатиоприн, метотрексат, микофенолат и FK506, антителами или другими. иммуноаблативные агенты, такие как CAMPATH, антитела против CD3 или другие виды терапии антителами, цитоксин, флударабин, циклоспорин, FK506, рапамицин, микофеноловая кислота, стероиды, FR901228, цитокины и облучение, пептидная вакцина, такая как описанная в Izumoto et al. 2008 г., журнал J Neurosurg 108: 963-971. В одном варианте осуществления описанная здесь CAR-экспрессирующая клетка может использоваться в комбинации с химиотерапевтическим агентом. Типичные химиотерапевтические агенты включают антрациклин (например, доксорубин (например, липосомальный доксорубин)), алкалоид барвинка (например, винбластин, винкристин, виндезин, винорелбин), алкилирующий агент (например, циклофосфамид, декарбазмоосфамидфалан, тефосфамид, декарбазмоосфоламидалан) антитело иммунных клеток (например, алектумаб, гемтузумаб, ритуксимаб, офатумумаб, тозитумумаб, брентуксимаб), антиметаболит (включая, например, антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пиримидина, аналоги пурина и ингибиторы

аденозиндезаминазы (например, флударабин), TNFR-глюкокортикоид-индуцированный агонист TNFR-родственного белка (GITR), ингибитор протеасом (например, аклациномицин А, глиотоксин или бортезомиб), иммуномодулятор, такой как талидомид или производное талидомида (например, леналидомид).

[00581] В некоторых вариантах реализации описанная здесь экспрессирующая CAR клетка вводится субъекту в комбинации с циклофосфамидом и флударабином.

[00582] В некоторых вариантах реализации, экспрессирующую CAR клетку, описанную в настоящем документе, вводят субъекту, которому ранее вводили как миелоаблативную, так и лимфодеплетирующую химиотерапию. Типичные схемы кондиционирования миелоаблативного и лимфодеплетирующего действия включают FCE (флударабин 25 мг/м²/день, дни от -7 до -3; циклофосфамид 200 мг/м²/день, дни от -7 до -3; и этопозид 250 мг/м²/день, дни от -4 до -3), FCIE (флударабин 25 мг/м²/день, дни от -7 до -3; циклофосфамид 200 мг/м²/день, дни от -7 до -3; идарубицин 12 мг/м²/день, дни от -7 до -5 и этопозид 250 мг/м²/день, дни от -4 до -3), FluCyE (флударабин 30 мг/м²/день, цитарабин 1,5 г/м²/день, вводимые после флударабина и этопозид 100 мг/м²/день с каждым из препаратов, вводимых с -6 по -1 день), или ФЭ (флударабин 30 мг/м²/день и этопозид 100 мг/м²/день с -5 по -1 день). В некоторых вариантах осуществления клетки, экспрессирующие CAR, вводят субъекту в период от 1 дня до 5 дней после последней дозы химиотерапии.

[00583] В некоторых вариантах реализации описанная здесь экспрессирующая CAR клетка вводится субъекту, которому ранее вводили этопозид. В некоторых вариантах реализации этопозид вводят внутривенно в дозе от 50 мг/м²/день до 250 мг/м²/день в течение 1-5 дней. В некоторых вариантах осуществления, этопозид дозируется т 5 мг/кг на дозу для между 1 до 5 доз. В некоторых вариантах осуществления клетки, экспрессирующие CAR, вводят субъекту в период от 1 дня до 5 дней после последней дозы этопозид.

[00584] В вариантах реализации изобретения, описанная здесь экспрессирующая CAR клетка вводится субъекту в комбинации с бендамустином и ритуксимабом.

[00585] В некоторых вариантах реализации описанная здесь экспрессирующая CAR клетка вводится субъекту в комбинации с ритуксимабом, циклофосфамидом, доксорубицином, винкристином и/или кортикостероидом (например, преднизолом). В вариантах реализации изобретения CAR или экспрессирующую CAR клетку нового поколения, описанную в настоящем документе, вводят субъекту в комбинации с ритуксимабом, циклофосфамидом, доксорубицином, винкристином и преднизолом (R-CHOP). В вариантах реализации изобретения у субъекта имеется диффузная большая В-клеточная лимфома (DLBCL).

[00586] В некоторых вариантах реализации описанная здесь экспрессирующая CAR клетка вводится субъекту в комбинации с этопозидом, преднизолом, винкристином, циклофосфамидом, доксорубицином и/или ритуксимабом. В вариантах реализации изобретения CAR или CAR-экспрессирующие клетки следующего поколения, описанные

в данном документе, вводят субъекту в комбинации с этопозидом, преднизолоном, винкристином, циклофосфамидом, доксорубицином и ритуксимабом (EPOCH-R). В вариантах реализации изобретения клетка, экспрессирующая CAR, описанная в настоящем документе, вводится субъекту в комбинации с дозой EPOCH-R (DA-EPOCH-R). В вариантах реализации изобретения у субъекта имеется В-клеточная лимфома, например, агрессивная В-клеточная лимфома с реаранжированными Мус.

[00587] В некоторых вариантах реализации описанная здесь экспрессирующая CAR клетка вводится субъекту в комбинации с брентуксимабом. Брентуксимаб представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство анти-CD30-антитела и монометилауристатина Е. В некоторых вариантах реализации у субъекта имеется лимфома Ходжкина (HL), например рецидивирующая или рефрактерная HL. В некоторых вариантах реализации субъект содержит CD30+HL. В вариантах реализации изобретения субъект перенес трансплантацию аутологичных стволовых клеток (ASCT).

[00588] В некоторых вариантах реализации, экспрессирующая CAR клетка, описанная в настоящем документе, вводится субъекту в комбинации с ингибитором CD20, например, антителом против CD20 (например, моно- или биспецифическим антителом против CD20) или его фрагментом.

[00589] В одном варианте осуществления описанная здесь экспрессирующая CAR клетка вводится субъекту в комбинации с ингибитором mTOR, например, ингибитором mTOR, описанным в данном документе, например, рапалогом, таким как эверолимус. В одном из воплощений ингибитор mTOR вводят до введения CAR-экспрессирующей клетки. Например, в одном варианте ингибитор mTOR можно вводить до афереза клеток. В одном варианте реализации у субъекта есть ХЛЛ.

[00590] В одном варианте реализации описанная здесь экспрессирующая CAR клетка может использоваться в комбинации с ингибитором киназы. В одном варианте осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор CDK4, например, описанный здесь ингибитор CDK4, например, ингибитор CD4/6, такой как, например, пальбоциклиб или PD0332991. В одном варианте осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор ВТК, например, описанный здесь ингибитор ВТК, такой как, например, ибрутиниб. В некоторых вариантах реализации ибрутиниб вводят в дозировке примерно 300-600 мг/день (например, примерно 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550 или 550-600 мг/день, например, примерно 420 мг/день или примерно 560 мг/день), например, перорально. В вариантах реализации изобретения 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 определенного периода времени, например, ежедневно для 21-дневного цикла или ежедневно для 28-дневного цикла. В одном варианте осуществления вводят 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более циклов ибрутиниба.

[00591] В одном из вариантов реализации ингибитор киназы представляет собой ингибитор mTOR, например, описанный здесь ингибитор mTOR, такой как, например,

рапамицин, аналог рапамицина, OSI-027. В одном из вариантов реализации ингибитор киназы представляет собой двойной PI3K/Описанный здесь ингибитор mTOR, такой как, например, PF-04695102.

[00592] В одном из вариантов реализации ингибитор киназы представляет собой ингибитор киназы Src. В одном из воплощений ингибитор киназы представляет собой дазатиниб. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Src вводят пациенту после введения клеток, экспрессирующих CAR, для контроля или прекращения активности клеток, экспрессирующих CAR. В одном варианте осуществления дазатиниб вводят пациенту после введения CAR-экспрессирующих клеток для контроля или прекращения активности CAR-экспрессирующих клеток. В одном варианте дазатиниб вводят перорально в дозе по меньшей мере 10 мг/день, 20 мг/день, 40 мг/день, 60 мг/день, 70 мг/день, 90 мг/день, 100 мг/день, 140 мг/день, 180 мг/день или 210 мг/день. [00592] В вариантах реализации изобретения, экспрессирующая CAR клетка, описанная в настоящем документе, вводится субъекту в комбинации с ингибитором киназы анапластической лимфомы (ALK).

[00593] Лекарственные средства, которые ингибируют кальциневрин (циклоспорин и FK506) либо кальцийзависимую фосфатазу, либо ингибируют киназу p70S6, которая важна для передачи сигналов, индуцированной фактором роста (рапамицин). (Liu et al., Cell 66: 807-815, 1991; Henderson et al., Immun. 73: 316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5: 763-773, 1993) могут также можно использовать. В дополнительном аспекте клеточные композиции по настоящему изобретению можно вводить пациенту в сочетании с (например, до, одновременно или после) трансплантации костного мозга, абляционной терапией Т-лимфоцитами с использованием химиотерапевтических агентов, таких как флударабин, лучевой терапии с дистанционным облучением. (XRT), циклофосфамид и/или антитела, такие как ОКТ3 или CAMPATH. В одном аспекте клеточные композиции по настоящему изобретению вводят после абляционной терапии В-клеток, такой как агенты, которые взаимодействуют с CD20, например, ритуксан. Например, в одном варианте осуществления субъекты могут проходить стандартное лечение химиотерапией в высоких дозах с последующей трансплантацией стволовых клеток периферической крови. В некоторых вариантах реализации изобретения после трансплантации субъекты получают инфузию размноженных иммунных клеток согласно раскрытию. В дополнительном варианте осуществления увеличенные клетки вводят до или после операции.

[00594] В вариантах реализации изобретения CAR-экспрессирующая клетка, описанная в настоящем документе, вводится субъекту в комбинации с трансплантатом аутологичных стволовых клеток, трансплантатом аллогенных стволовых клеток, трансплантатом аутологичного костного мозга или трансплантатом аллогенного костного мозга.

[00595] В вариантах реализации изобретения CAR-экспрессирующая клетка, описанная в настоящем документе, вводится субъекту в комбинации с

микротрансплантатом или аллогенной клеточной терапией, несоответствующей HLA (Guo M et al, J. Clin Oncol. 2012 Nov 20; 30 (33): 4084-90).

[00596] В вариантах реализации изобретения, экспрессирующая CAR клетка, описанная в настоящем документе, вводится субъекту в комбинации с ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO).

[00597] В вариантах реализации изобретения, экспрессирующая CAR клетка, описанная в настоящем документе, вводится субъекту в комбинации с модулятором супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC).

[00598] В вариантах реализации изобретения, экспрессирующую CAR клетку, описанную в настоящем документе, вводят субъекту в комбинации с ингибитором Brd4 или BET (бромодомен и экстра-концевой мотив). Примеры ингибиторов Brd4, которые можно вводить в комбинации с CAR-экспрессирующими клетками, включают, но не ограничиваются ими, JQ1, MS417, OTX015, LY 303511 и ингибитор Brd4, как описано в US 20140256706 A1, и любые их аналоги.

[00599] В некоторых вариантах реализации, экспрессирующая CAR клетка, описанная в настоящем документе, вводится субъекту в комбинации с полипептидом интерлейкина-15 (IL-15), полипептидом рецептора интерлейкина-15 альфа (IL-15Ra) или комбинацией как полипептид IL-15, так и полипептид IL-15Ra, например hetIL-15 (Admune Therapeutics, LLC). В некоторых вариантах реализации het-IL-15 вводят подкожно.

[00600] В одном варианте реализации субъекту можно вводить агент, который снижает или ослабляет побочный эффект, связанный с введением CAR-экспрессирующей клетки. Побочные эффекты, связанные с введением клетки, экспрессирующей CAR, включают, но не ограничиваются ими, CRS и гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (HLH), также называемый синдромом активации макрофагов (MAS).

[00601] Соответственно, описанные здесь способы могут включать введение CAR-экспрессирующей клетки, описанной в настоящем документе, субъекту и дальнейшее введение одного или нескольких агентов для управления повышенными уровнями растворимого фактора в результате лечения CAR-экспрессирующей клеткой. В одном варианте осуществления растворимый фактор, повышенный у субъекта, представляет собой один или несколько из IFN- γ , TNF α , IL-2 и IL-6. В одном из вариантов реализации фактор, повышенный у субъекта, представляет собой один или несколько из следующих факторов: IL-1, GM-CSF, IL-10, IL-8, IL-5 и фракталкин. Следовательно, средство, вводимое для лечения этого побочного эффекта, может быть средством, которое нейтрализует один или несколько из этих растворимых факторов. В одном варианте осуществления агент, нейтрализующий одну или несколько из этих растворимых форм, представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Примеры таких агентов включают, но не ограничиваются ими, стероид (например, кортикостероид), ингибиторы Src (например, дазатиниб), ингибитор TNF α и ингибитор IL-6. Примером ингибитора TNF α является молекула антитела против TNF α , такая как инфликсимаб,

адалимумаб, цертолизумаб пегол и голимумаб. Другой пример ингибитора $TNF\alpha$ - это гибридный белок, такой как энтанерцепт. Примером ингибитора $IL-6$ является молекула антитела против $IL-6$ или молекула антитела против рецептора $IL-6$, такая как тоцилизумаб (toe), сарилумаб, элсалимомаб, CNTO 328, ALD518/BMS-945429, CNTO 136, CPSI-2364, CDP6038, VX30, ARGX-109, FE301 и FM101. В одном из воплощений молекула антитела против рецептора $IL-6$ представляет собой тоцилизумаб. В одном из вариантов реализации ингибитор $IL-6$ представляет собой биспецифическое антитело верблюда, которое связывается с $IL6R$ и человеческим сывороточным альбумином (например, $IL6R$ -304-Alb8) (SEQ ID NO: 2649). Примером ингибитора на основе $IL-1R$ является анакинра. В одном варианте реализации средство, вводимое для лечения побочных эффектов клеток, экспрессирующих CAR, представляет собой ингибитор Src (например, дазатиниб). В одном варианте осуществления агент, вводимый для лечения побочных эффектов CAR-экспрессирующих клеток, представляет собой ингибитор Src дазатиниб. В вариантах реализации изобретения дазатиниб вводят в дозе от примерно 10 мг/день до 240 мг/день (например, 10 мг/день, 20 мг/день, 40 мг/день, 50 мг/день, 70 мг/день, 80 мг/день, 100 мг/день, 110 мг/день, 120 мг/день, 140 мг/день, 180 мг/день, 210 мг/день, 240 мг/день или 300 мг/день).

[00602] В одном из вариантов реализации субъекту можно вводить агент, который усиливает активность клетки, экспрессирующей CAR. Например, в одном варианте осуществления агент может быть агентом, который ингибирует ингибирующую молекулу. Ингибирующие молекулы, например, Programmed Death 1 (PD-1), в некоторых вариантах реализации могут снижать способность экспрессирующей CAR клетки вызывать иммунный эффекторный ответ. Примеры ингибирующих молекул включают PD-1, PDL1, CTLA-4, TIM-3, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 и TGFR бета. Ингибирование ингибирующей молекулы, например, путем ингибирования на уровне ДНК, РНК или белка, может оптимизировать производительность клеток, экспрессирующих CAR. В вариантах реализации изобретения ингибирующая нуклеиновая кислота, например ингибирующая нуклеиновая кислота, например дцРНК, например миРНК или кшРНК, кластерные короткие палиндромные повторы с регулярными интервалами (CRISPR), активатор транскрипции, подобный эффекторной нуклеазе (TALEN), или эндонуклеаза цинкового пальца (ZFN), например, как описано в данном документе, может использоваться для ингибирования экспрессии ингибирующей молекулы в CAR-экспрессирующей клетке. В одном из воплощений ингибитор представляет собой кшРНК. В одном из вариантов осуществления ингибирующая молекула ингибируется в клетке, экспрессирующей CAR. В этих вариантах осуществления молекула дцРНК, которая ингибирует экспрессию ингибирующей молекулы, связана с нуклеиновой кислотой, которая кодирует компонент, например все компоненты CAR. В одном варианте осуществления ингибитор ингибирующего сигнала может быть, например, антителом или фрагментом антитела, который связывается с ингибирующей молекулой. Например, агент может быть антителом

или фрагментом антитела, который связывается с PD-1, PD-L1, PD-L2 или CTLA4. В одном из вариантов осуществления агент представляет собой антитело или фрагмент антитела, который связывается с TIM3. В одном из вариантов осуществления агент представляет собой антитело или фрагмент антитела, который связывается с CEACAM (CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5). В одном из вариантов осуществления агент представляет собой антитело или фрагмент антитела, который связывается с LAG3.

[00603] Антитела, фрагменты антител и другие ингибиторы PD-1, PD-L1 и PD-L2 доступны в данной области и могут использоваться в комбинации с CAR согласно описанию, описанному в данном документе. Пембролизумаб - это гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое связывается с PD-1. В других вариантах реализации агент, усиливающий активность клетки, экспрессирующей CAR, представляет собой ингибитор CEACAM (например, ингибитор CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5).

[00604] В одном варианте реализации агент, усиливающий активность CAR, описанного в данном документе, представляет собой другой агент, который увеличивает экспрессию антигена-мишени, против которого направлен CAR. Агенты, которые можно вводить субъекту, получающему CAR-экспрессирующую клетку, описанную здесь, включают: триоксид мышьяка, ATRA (полностью транс-ретиноевую кислоту), соединения 27, 40, 49 из (Du et al, Blood; Prepublished online October 12, 2016), ингибиторы IDH2 (например, AG-221) или их комбинации. В одном из вариантов осуществления агенты вводят до, одновременно или после введения CAR-экспрессирующих клеток. В предпочтительных вариантах осуществления эти агенты вводят до введения CAR-экспрессирующих клеток. В предпочтительном варианте осуществления клетки, экспрессирующие CAR, которые вводят с указанными выше агентами, нацелены на антиген В-клеток (например, CD19, CD20 или CD22 и т. Д.).

[00605] В одном варианте реализации агент, который усиливает активность CAR или CAR следующего поколения, описанного в настоящем документе, представляет собой растворимый рецептор. Растворимый рецептор, который можно вводить субъекту, получающему CAR-экспрессирующую клетку, описанную в данном документе, включает: sHVEM (SEQ ID NO: 2664), слитый белок sHVEM-Alb8-vHH (SEQ ID NO: 2665) или их комбинацию. Растворимый рецептор можно вводить один раз в день или более одного раза в день, например, два раза в день, три раза в день или четыре раза в день. Растворимый рецептор можно вводить более одного дня, например растворимый рецептор вводят в течение 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней, 6 дней, 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель. Например, растворимый рецептор вводят один раз в день в течение 7 дней.

[00606] В одном варианте реализации субъекту можно вводить агент, который защищает от токсичности CAR-экспрессирующих клеток на нормальные ткани. Одним из ограничений терапии CAR-T-клетками может быть токсичность для нормальной ткани. Например, CAR или CAR следующего поколения, нацеленное на CD19, может привести к долгосрочному истощению нормальных В-клеток, которые также экспрессируют антиген

CD19. В одном варианте осуществления терапия CD19 CAR-T клетками может быть объединена с нокаутом или мутацией эндогенного CD19 в нормальных гемопоэтических стволовых клетках. В одном варианте реализации нокаут или мутация эндогенного CD19 достигается с использованием CRISPS/Cas9, Talons или других подходящих способов редактирования генов, известных в данной области. Эпитоп CD19, связанный с клетками CD19 CAR-T в настоящее время в клинической практике, был сопоставлен с экзоном 2-4. В одном варианте осуществления миссенс или нонсенс мутации генерируются в экзоне 2 (или других подходящих экзонах/областях, которые распознаются CD19-нацеленными CAR T-клетками) аутологических или аллогенных гемопоэтических стволовых клеток с использованием CRISP/Cas9, нуклеаз Zn-пальца, талонов или других методы, известные в данной области. В одном варианте субъекту вводят инфузию CD19 CAR-T-клеток для контроля его/ее заболевания и трансплантацию аутологичных или аллогенных стволовых клеток с использованием гематopoэтических стволовых клеток с удаленным/мутированным CD19. Поскольку В-клетки, которые будут происходить из модифицированных стволовых клеток, не будут нацелены на CD19-CAR-T-клетки, пациент избежит аплазии В-клеток, которая является частым побочным эффектом CD19-CAR-T-клеток. В другом варианте осуществления терапия MPL CAR-T-клетками сочетается с нокаутом или мутацией эндогенного MPL в нормальных гемопоэтических стволовых клетках. В другом варианте осуществления терапия CD123 CAR-T клетками комбинируется с нокаутом или мутацией эндогенного CD123 в нормальных гемопоэтических стволовых клетках. В другом варианте осуществления терапия CD33 CAR-T-клетками комбинируется с нокаутом или мутацией эндогенного CD33 в нормальных гемопоэтических стволовых клетках. В другом варианте осуществления терапия CD20 CAR-T клетками сочетается с нокаутом или мутацией эндогенного CD20 в нормальных гемопоэтических стволовых клетках. В другом варианте осуществления терапия CD22 CAR-T клетками сочетается с нокаутом или мутацией эндогенного CD22 в нормальных гемопоэтических стволовых клетках. В другом варианте осуществления терапия CS1 CAR-T-клетками комбинируется с нокаутом или мутацией эндогенного CS1 в нормальных гемопоэтических стволовых клетках. В другом варианте осуществления терапия BCMA CAR-T-клетками комбинируется с нокаутом или мутацией эндогенного BCMA в нормальных гемопоэтических стволовых клетках. В другом варианте осуществления терапия CD45 CAR-T-клетками комбинируется с нокаутом или мутацией эндогенного CD45 в нормальных гемопоэтических стволовых клетках или иммунных эффекторных клетках (например, Т-клетках или NK-клетках). По сути, подобный подход может быть использован для уменьшения токсичности CAR-T-клеток в отношении нормальной ткани, где антиген, нацеленный на CAR или CAR следующего поколения, также экспрессируется на нормальных гемопоэтических стволовых клетках или одним из их потомков.

[00607] В другом варианте реализации CAR-T-клеточная терапия комбинируется с нокаутом или мутацией эндогенного гена или белка, нацеленного на CAR или CAR

следующего поколения в иммунных эффекторных клетках (например, Т-клетках или NK-клетках) или стволовых клетках, которые дают начало иммунным эффекторным клеткам. Например, поскольку CD45 экспрессируется на всех гематопозитических клетках, CAR-Т-клетки, нацеленные на CD45, будет трудно генерировать, поскольку они будут уничтожены соседними клетками CD45-CART. Однако такие клетки могут быть созданы, если экспрессия CD45 CAR в Т-клетках сочетается с нокдауном или делецией эндогенного CD45 в Т-клетках, в которых экспрессируется CD45 CAR или CAR следующего поколения. По сути, аналогичный подход можно использовать для генерации CAR или CAR следующего поколения, нацеленных на другие антигены, которые экспрессируются на эффекторных иммунных клетках. Примеры таких антигенов включают, но не ограничиваются ими, CD5, TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ , preTCR α и различные рецепторы, экспрессируемые на NK-клетках.

[00608] Цитокины, которые можно вводить субъекту, получающему CAR-экспрессирующую клетку, описанную в настоящем документе, включают: IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18, LIGHT и IL-21 или их комбинацию. В предпочтительных вариантах реализации вводимый цитокин представляет собой IL-7, IL-15 или IL-21, IL12F или их комбинацию. Цитокин можно вводить один раз в день или более одного раза в день, *например*, два раза в день, три раза в день или четыре раза в день. Цитокин можно вводить более одного дня, *например*, цитокин вводят в течение 2 дней, 3 дней, 4 дней, 5 дней, 6 дней, 1 неделю, 2 недели, 3 недели или 4 недели. Например, цитокин вводят один раз в день в течение 7 дней. В предпочтительном варианте осуществления цитокин, вводимый после введения клеток, экспрессирующих CAR, представляет собой IL-7.

[00609] В одном из вариантов реализации агент, который усиливает активность CAR-экспрессирующей клетки, описанной в настоящем документе, представляет собой ингибитор Brd4, или миРНК, или шРНК, нацеленную на BRD4, как описано в (Tolani, B et al., Oncogen, 29; 33 (22): 2928-37. PMID: 23792448) (Толани, Гопалакришнан, Пендж, Матта и Чаудхари, 2014 г.).

[00610] В настоящем документе также представлены фармацевтические композиции, содержащие любой один или несколько из рецепторов химерного антигена, полинуклеотидов, полипептидов, векторов, вирусов и/или генно-инженерных клеток и/или химических соединений, описанных в данном документе, и фармацевтически приемлемые перевозчик. Такие композиции могут содержать буферы, такие как нейтральный забуференный физиологический раствор, забуференный фосфатом физиологический раствор и тому подобное; углеводы, такие как глюкоза, манноза, сахароза или декстраны, маннитол; белки; полипептиды или аминокислоты, такие как глицин; антиоксиданты; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА или глутатион; адъюванты (*например*, гидроксид алюминия); и консерванты. Композиции согласно настоящему описанию составлены в одном аспекте для внутривенного введения.

[00611] Фармацевтические композиции согласно настоящему описанию можно вводить способом, соответствующим заболеванию, которое необходимо лечить.

Количество и частота введения будут определяться такими факторами, как состояние пациента, а также тип и тяжесть заболевания пациента, хотя соответствующие дозировки могут быть определены клиническими испытаниями.

[00612] Когда указано «терапевтически эффективное количество», точное количество вводимых композиций по раскрытию может быть определено врачом с учетом индивидуальных различий в возрасте, весе, размере опухоли, степени инфекции или метастазов, и состояние пациента (субъекта). В целом можно утверждать, что фармацевтическая композиция, содержащая генетически модифицированные клетки (Т-клетки, НК-клетки), описанные в настоящем документе, может вводиться в дозе от 10^4 до 10^9 клеток/кг веса тела, в некоторых случаях от 10^5 до 10^6 клеток / кг массы тела, включая все целые числа в этих диапазонах. Композиции Т-клеток также можно вводить несколько раз в этих дозах. Клетки можно вводить с использованием методов инфузии, которые широко известны в иммунотерапии (см., *Например*, Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319: 1676, 1988).

[00613] В некоторых случаях может потребоваться введение активированных генетически модифицированных клеток (Т-клетки, НК-клетки) субъекту с последующим повторным забором крови (или аферезом), активацией из них генетически модифицированных клеток и повторной инфузией пациенту с этими активированными и разросшимися генетически модифицированными клетками. Это можно делать несколько раз каждые несколько недель. В некоторых аспектах иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, НК-клетки) могут быть активированы образцом крови объемом от 10 до 400 куб. В некоторых аспектах иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, НК-клетки) активируются из образца крови объемом 20 куб, 30 куб, 40 куб, 50 куб, 60 куб, 70 куб, 80 куб, 90 куб или 100 куб.

[00614] «Фармацевтически приемлемый эксципиент» означает эксципиент, который полезен при приготовлении фармацевтической композиции, которая обычно является безопасной, нетоксичной и желательной, и включает эксципиенты, приемлемые для ветеринарного использования, а также для фармацевтического применения человеком. Такие наполнители могут быть твердыми, жидкими, полутвердыми или, в случае аэрозольной композиции, газообразными.

[00615] В различных вариантах реализации фармацевтические композиции согласно настоящему раскрытию могут быть составлены для доставки любым путем. «Путь введения» может относиться к любому пути введения, известному в данной области, включая, помимо прочего, аэрозольный, назальный, пероральный, внутривенный, внутримышечный, внутривнутрибрюшинный, ингаляционный, чрескожный, трансдермальный, парентеральный, имплантируемый насос, непрерывное вливание, местное применение, капсулы и/или инъекции.

[00616] Фармацевтические композиции согласно раскрытию могут также содержать любой фармацевтически приемлемый носитель. Используемый здесь термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к фармацевтически приемлемому

материалу, композиции или носителю, которые участвуют в переносе или транспортировке представляющего интерес соединения из одной ткани, органа или части тела в другую ткань, орган или часть тела. Например, носитель может быть жидким или твердым наполнителем, разбавителем, наполнителем, растворителем или инкапсулирующим материалом или их комбинацией. Каждый компонент носителя должен быть «фармацевтически приемлемым» в том смысле, что он должен быть совместим с другими ингредиентами препарата. Он также должен быть пригоден для использования в контакте с любыми тканями или органами, с которыми он может контактировать, а это означает, что он не должен нести риска токсичности, раздражения, аллергической реакции, иммуногенности или любых других осложнений, которые чрезмерно перевешивают его терапевтические преимущества.

[00617] Фармацевтические композиции согласно раскрытию также могут быть инкапсулированы, таблетированы или приготовлены в виде эмульсии или сиропа для перорального введения. Фармацевтически приемлемые твердые или жидкие носители могут быть добавлены для улучшения или стабилизации композиции или для облегчения приготовления композиции. Жидкие носители включают сироп, арахисовое масло, оливковое масло, глицерин, физиологический раствор, спирты и воду. Твердые носители включают крахмал, лактозу, сульфат кальция, дигидрат, terra alba, стеарат магния или стеариновую кислоту, тальк, пектин, гуммиарабик, агар или желатин. Носитель может также включать в себя длительное высвобождение материала, такого как глицерил моностеарат или глицерил дистеарат, один или с воском.

[00618] Фармацевтические препараты изготавливают в соответствии с общепринятыми фармацевтическими методами, включающими измельчение, смешивание, гранулирование и прессование, при необходимости, таблетированных форм; или измельчение, смешивание и наполнение форм твердых желатиновых капсул. Когда используется жидкий носитель, препарат будет в форме сиропа, эликсира, эмульсии или водной или неводной суспензии. Такой жидкий состав можно вводить непосредственно перорально или заполнять мягкую желатиновую капсулу.

[00619] Фармацевтические композиции согласно раскрытию можно доставлять в терапевтически эффективном количестве. Точное терапевтически эффективное количество - это такое количество композиции, которое даст наиболее эффективные результаты с точки зрения эффективности лечения у данного субъекта. Это количество будет варьироваться в зависимости от множества факторов, включая, помимо прочего, характеристики терапевтического соединения (включая активность, фармакокинетику, фармакодинамику и биодоступность), физиологическое состояние субъекта (включая возраст, пол, тип заболевания и стадию), общее физическое состояние, чувствительность к данной дозировке и тип лекарства), природа фармацевтически приемлемого носителя или носителей в составе и способ введения. Специалист в области клинической и фармакологической науки сможет определить терапевтически эффективное количество с помощью обычных экспериментов, например, путем мониторинга реакции субъекта на

введение соединения и соответствующей корректировки дозировки. Дополнительные рекомендации см. В Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed. 20th edition, Williams & Wilkins PA, USA) (2000).

[00620] Введение рассматриваемых композиций может осуществляться любым удобным способом, включая аэрозольную ингаляцию, инъекцию, переливание, имплантацию или трансплантацию. Композиции, описанные в данном документе, можно вводить пациенту трансартериально, подкожно, внутривенно, внутриопухолево, внутриузочно, интрамедуллярно, внутримышечно, внутривенной (iv) инъекцией или внутрибрюшинно. В одном аспекте композиции Т-клеток согласно настоящему описанию вводят пациенту путем внутривенной или подкожной инъекции. В одном аспекте композиции Т-клеток по раскрытию вводят i. v. инъекцией. Композиции иммунных эффекторных клеток (*например*, Т-клеток, НК-клеток) можно вводить непосредственно в опухоль, лимфатический узел или место инфекции.

[00621] В конкретном примерном аспекте субъекты могут подвергаться лейкоферезу, при котором лейкоциты собирают, обогащают или истощают ex vivo для отбора и/или выделения представляющих интерес клеток, например, Т-клеток. Эти изоляты Т-клеток можно размножать способами, известными в данной области, и обрабатывать таким образом, чтобы можно было ввести одну или несколько конструкций CAR или CAR следующего поколения по настоящему описанию, тем самым создавая CAR-Т-клетку по настоящему описанию. Субъекты, нуждающиеся в этом, могут впоследствии пройти стандартное лечение с применением высоких доз химиотерапии с последующей трансплантацией стволовых клеток периферической крови. В определенных аспектах после трансплантации или одновременно с ней субъекты получают введение увеличенных клеток CAR-Т согласно раскрытию. В дополнительном аспекте увеличенные клетки вводят до или после операции.

[00622] В одном варианте осуществления CAR вводится в иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, НКТ-клетки), например, с использованием транскрипции in vitro, и субъект (например, человек) получает первоначальное введение CAR или CAR следующего поколения. эффекторные иммунные клетки (например, Т-клетки, НКТ-клетки) по настоящему раскрытию и одно или несколько последующих введений CAR или CAR-иммунных эффекторных клеток следующего поколения (например, Т-клетки, НК-клетки) по настоящему раскрытию, где один или несколько последующих введения осуществляют менее чем через 15 дней, например, через 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 дня после предыдущего введения. В одном варианте осуществления субъекту (например, человеку) вводят более одного введения CAR или эффекторных иммунных клеток CAR следующего поколения (например, Т-клеток, НК-клеток) в неделю, например, 2, 3 или Вводят 4 введения CAR или эффекторных иммунных клеток CAR следующего поколения (например, Т-клеток, НК-клеток) в неделю. В одном варианте реализации субъект (например, человек) получает более одного введения иммунных эффекторных клеток CAR (например, Т-клеток, НК-клеток) в неделю (например, 2, 3 или 4 введения в

неделю) (также упоминается как здесь в виде цикла), за которой следует неделя отсутствия CAR или введений иммунных эффекторных клеток CAR следующего поколения (например, Т-клеток, НК-клеток), а затем одно или несколько дополнительных введений CAR или иммунных эффекторных клеток CAR следующего поколения (например, Т-клетки, НК-клетки) (например, более одного введения CAR или иммунных эффекторных клеток CAR следующего поколения (например, Т-клеток, НК-клеток) в неделю) вводят субъекту. В другом варианте субъект (например, человек) получает более одного цикла CAR или иммунных эффекторных клеток CAR следующего поколения (например, Т-клеток, НК-клеток), и время между каждым циклом составляет менее 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 или 3 дня. В одном варианте осуществления CAR или эффекторные иммунные клетки CAR следующего поколения (например, Т-клетки, НК-клетки) вводят через день по 3 введения в неделю. В одном варианте осуществления изобретения иммунные эффекторные клетки CAR (например, Т-клетки, НК-клетки) по настоящему описанию вводят в течение по меньшей мере двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или более недель.

[00623] Потенциальной проблемой, которая может возникнуть у пациентов, получающих лечение с использованием временно экспрессирующих CAR или иммунных эффекторных клеток CAR следующего поколения (например, Т-клеток, НК-клеток) (особенно с мышинным scFv, несущим CAR-Ts), является анафилаксия после нескольких курсов лечения.

[00624] Не связываясь с этой теорией, полагают, что такой анафилактический ответ может быть вызван у пациента, развивающим гуморальный анти-CAR ответ, то есть анти-CAR антитела, имеющие изотип анти-IgE. Считается, что клетки, продуцирующие антитела, пациента подвергаются переключению класса с изотипа IgG (который не вызывает анафилаксию) на изотип IgE, когда существует перерыв в воздействии антигена на десять-четырнадцать дней.

[00625] Если у пациента имеется высокий риск развития анафилактического ответа на CAR или CAR-терапию следующего поколения или выработки ответа антител IgE-типа в ходе CAR-терапии или CAR-терапии следующего поколения, то омализумаб (Xolair) можно вводить до или во время CAR или CAR-терапии нового поколения.

[00626] Если у пациента высокий риск выработки ответа анти-CAR антител во время курса транзитной CAR или терапии CAR следующего поколения (например, вызванных трансдукцией РНК), перерывы в инфузии CAR-T не должны длиться более десяти до четырнадцати дней.

[00627] Также предоставляются наборы для практического применения раскрытия. Например, наборы для лечения рака у субъекта или получения CAR-T-клетки, которая экспрессирует один или несколько CAR или CAR следующего поколения, описанных в данном документе. Наборы могут включать молекулу нуклеиновой кислоты или молекулу полипептида, кодирующую CAR или CAR следующего поколения, или вектор, кодирующий CAR или CAR следующего поколения, а также способ введения

нуклеиновой кислоты в иммунные эффекторные клетки. Набор может включать вирус, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR или CAR следующего поколения, и химические вещества, такие как полибрен, для усиления трансдукции вируса. Набор может содержать компоненты для выделения Т-клеток для экспрессии CAR или CAR следующего поколения. В качестве альтернативы набор может содержать иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки или НК-клетки) или стволовые клетки, экспрессирующие CAR или CAR следующего поколения. В набор можно включить более одного из описанных CAR. Набор может включать контейнер и этикетку или листок-вкладыш на контейнере или связанный с ним.

[00628] Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы и т.д. Контейнеры могут быть сформированы из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер обычно содержит композицию, включающую одну или несколько молекул нуклеиновой кислоты, вирусы, векторы, Т-клетки, экспрессирующие CAR или CAR следующего поколения. В нескольких вариантах осуществления контейнер может иметь порт для стерильного доступа (например, контейнер может представлять собой пакет с раствором для внутривенного введения или флакон, имеющий пробку, которую можно проткнуть иглой для подкожных инъекций). Этикетка или вкладыш в упаковку указывает, что композиция используется для лечения определенного состояния. Этикетка или вкладыш в упаковку обычно дополнительно включают инструкции по применению описанных молекул нуклеиновых кислот, CAR или CAR следующего поколения или Т-клеток, экспрессирующих CAR или CAR следующего поколения, например, в способе лечения или профилактики опухоли или создания CAR-Т-клетка. Вкладыш в упаковку обычно включает инструкции, обычно включаемые в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, противопоказаниях и/или предупреждениях относительно использования таких терапевтических продуктов. Учебные материалы могут быть написаны в электронной форме (например, компьютерная дискета или компакт-диск) или могут быть визуальными (например, видеофайлы). Наборы могут также включать дополнительные компоненты для облегчения конкретного применения, для которого предназначен набор. Таким образом, например, набор может дополнительно содержать средства для измерения экспрессии CAR или CAR следующего поколения на Т-клетках или для определения количества или процента Т-клеток, экспрессирующих CAR, или для определения функциональности CAR-Т-клеток. Наборы могут дополнительно включать буферы и другие реагенты, обычно используемые для практики конкретного метода. Такие наборы и соответствующее содержимое хорошо известны специалистам в данной области.

[00629] Животные модели также могут использоваться для измерения активности CAR. Например, можно использовать модель ксенотрансплантата с использованием описанного здесь антигена, ассоциированного с раком человека, специфичного для CAR+Т-клеток, для лечения первичного человеческого пре-B-ALL у иммунодефицитных

мышей. См., Например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17 (S): 1453-1464 (2009).

[00630] Можно оценить дозозависимый ответ на лечение CAR. См., Например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17 (S): 1453-1464 (2009).

[00631] Оценка пролиферации клеток и продукции цитокинов была ранее описана, например, в Milone et al., *Molecular Therapy* 17 (S): 1453-1464 (2009).

[00632] Цитотоксичность можно оценить с помощью анализа Matador или стандартного анализа высвобождения ^{51}Cr . См., Например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17 (8): 1453-1464 (2009).

[00633] Технологии визуализации могут использоваться для оценки специфического переноса и пролиферации zSIR в моделях животных с опухолями. Такие анализы описаны, например, в Barrett et al., *Human Gene Therapy* 22: 1575-1586 (2011).

[00634] Другие анализы, включая те, которые описаны в разделе «Примеры» здесь, а также те, которые известны в данной области, также могут быть использованы для оценки CAR, описанного здесь.

ПРИМЕРЫ

[00635] Активность CAR можно тестировать с помощью нескольких анализов *in vitro* и *in vivo*, описанных здесь и ниже. Общая схема создания, выбора и использования подходящих CAR представлена ниже:

[00636] Идентификация мишени для получения CAR. Подходящую мишень для разработки направленных против нее CAR выбирают на основе поиска в литературных источниках или базах данных геномной экспрессии. В целом, подходящая мишень для CAR демонстрирует более высокую экспрессию на вызывающих заболевание или ассоциированных с заболеванием клетках по сравнению с нормальными здоровыми клетками.

[00637] Генерация CAR. После идентификации кандидата-антигена-мишени для CAR создается антигенсвязывающий домен CAR на основе информации, доступной в литературе. В общем, антигенсвязывающий домен CAR обычно основан на антителе, фрагментах антитела, scFV или доменах vHH верблюда. Последовательности переменных цепей тяжелых (vH) и легких (vL) цепей антител, доменов vHH верблюжьих и различных рецепторов и лигандов можно получить путем секвенирования или из общедоступных баз данных и можно использовать для синтеза CAR с использованием способа, описанного здесь, как показано в разных примерах. Последовательности, содержащие антигенсвязывающие домены CAR, оптимизированы по кодонам и синтезированы искусственно с использованием общедоступного программного обеспечения (например, ThermoFisher или IDT) и коммерческих поставщиков (например, IDT). Полученные фрагменты амплифицируют с помощью ПЦР и клонируют в различных векторах, содержащих разные каркасные цепи CAR, с использованием стандартных методов молекулярной биологии. Различные магистрали CAR описаны в WO 2016/187349 A1, PCT/US2016/058305, US 62/429,597, PCT/US17/64379 и PCT/US2017/024843, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки. Как правило,

конструкции CAR обычно клонируют в лентивирусном векторе. Последовательности конструкций подтверждены с помощью автоматического секвенирования.

[00638] Другой пример конструкции, кодирующей zSIR, представляет собой pLenti-EF1 α -CD8SP-BCMA-Am06-HL-vL-IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-BCMA-Am06-HL-vH-IgG1-CH1-KPN-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-Xba-PAC-DWPRE (SEQ ID NO: 154). Эта конструкция имеет множество удобных сайтов рестрикции, так что фрагменты антигенсвязывающего домена (например, домены vL и vH) могут быть вырезаны и заменены фрагментами антигенсвязывающего домена, нацеленными на другие антигены. Вектор несет сайт Nhe I перед сигнальным пептидом CD8 (CD8SP), который также можно использовать вместе с сайтом Xho I для клонирования в новый фрагмент vL, несущий 5' сигнальный пептид. Сайты BstB I и Mlu I могут использоваться для замены фрагмента vH. Сайты Xho I и Spe I можно использовать для замены модуля, кодирующего IgCL- [IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A, другим модулем. Точно так же сайты MluI и Xba можно использовать для замены модуля, содержащего IgG1-CH1-KPN-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A. Вспомогательный модуль, кодирующий PAC, можно заменить с помощью сайтов ограничения Xba I (или Nde I) и SalI. Таким образом, человек с обычными навыками в данной области может использовать этот вектор и последовательность антигенсвязывающего домена (например, домены vL и vH антитела) для создания zSIR, нацеленных на любой другой новый антиген.

[00639] Получение слитых белков секреторного антиген-NLuc и слитых белков антигенсвязывающего домена (ABD)-NLuc. (Необязательный шаг).

[00640] Слитые белки секреторный антиген-NLuc и слитые белки антигенсвязывающий домен (ABD) -NLuc были созданы и использованы, как описано в PCT/US2017/025602, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Панель клеточных линий тестируется на связывание с гибридным белком ABD-NLuc для идентификации клеточных линий, которые экспрессируют высокие уровни мишени CAR и, следовательно, могут использоваться для проверки активности CAR. В таблице A представлен примерный список клеточных линий, экспрессирующих различные антигенные мишени, которые можно использовать для анализа активности CAR в соответствии с настоящим раскрытием. Клеточные линии, экспрессирующие мишень CAR, также можно идентифицировать с использованием альтернативных методов, таких как поиск в литературе, иммуноокрашивание коммерчески доступными антителами или поиск в общедоступных базах данных по экспрессии генов.

[00641] Иммунные эффекторные клетки, экспрессирующие CAR, тестируют в следующих анализах для идентификации функциональных CAR.

[00642] **(А) Анализ топанги (анализ связывания NLuc):** контрольный вектор и CAR, экспрессирующие Jurkat-NFAT-GFP или Т-клетки, окрашивают слитым белком-мишенью антиген-NLuc (как описано выше) и их способностью связываться с мишенью. антиген оценивается путем измерения активности NLuc. Например, клетки Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующие CAR на основе FMC63, нацеленные на CD19, демонстрируют

повышенное связывание со слитым белком CD19-NLuc по сравнению с контрольным вектором, экспрессирующим клетки Jurkat-NFAT-GFP или родительские клетки Jurkat-NFAT-GFP.

[00643] **(B) Индукция экспрессии GFP, управляемая промотором NFAT.** Контрольный вектор и CAR, экспрессирующий Jurkat-NFAT-GFP, совместно культивировали в течение 4-24 часов с антиген-экспрессирующей линией клеток-мишеней (описанной выше), и их способность связываться с антигеном-мишенью анализировали путем измерения индукции GFP. экспрессия с использованием проточной цитометрии. Клеточный супернатант собирают и анализируют на индукцию цитокинов (например, IL2).

[00644] **(C) Анализ продукции цитокинов:** контрольный вектор и CAR, экспрессирующие Jurkat-NFAT-GFP или Т-клетки, совместно культивируют с линиями клеток-мишеней в течение 4-96 часов, и супернатант исследуют на индукцию цитокинов (например, IL2, IFN γ , TNF α и т.д.) Экспрессируют с помощью ELISA.

[00645] **(D) Анализ цитотоксической активности in vitro и in vivo:** Неинфицированные Т-клетки или клетки, экспрессирующие контрольный вектор или CAR, совместно культивируются с линиями клеток-мишеней, экспрессирующих несекреторную форму люциферазы (например, GLuc, NLuc, Turboluc 16 и т. Д.) В течение 4-96 часов, а индукцию лизиса клеток исследовали путем измерения активности люциферазы, как описано в PCT/US17/52344. Альтернативные методы измерения цитотоксической активности (например, анализ высвобождения ^{51}Cr или анализ высвобождения ЛДГ) могут быть также используются. Активность Т-клеток, экспрессирующих CAR, также можно анализировать in vivo с использованием соответствующих моделей ксенотрансплантатов на иммунодефицитных мышах.

[00646] На основе вышеупомянутых методов специалист в данной области может легко спроектировать, спроектировать, протестировать и выбрать подходящий функционирующий пул CAR или CAR против любого антигена. CAR или пул CAR можно использовать для клинических испытаний на людях и клинических применений для профилактики и лечения различных болезненных состояний. В таблице 9 представлен примерный список болезненных состояний человека, которые можно лечить с использованием раскрытых CAR.

[00647] Возможно, что разные CAR или подмножество CAR являются оптимальными для разных болезненных состояний в зависимости от различных факторов, включая, но не ограничиваясь, распространенность и уровень экспрессии целевого антигена в вызывающих и связанных с заболеванием клетки, бремя болезни и скорость прогрессирования болезни. Различные CAR могут быть оптимальными даже для одного и того же болезненного состояния у разных пациентов, в зависимости от их эффективности и профиля токсичности, а также от состояния пациента. Раскрытие информации обеспечивает решение серьезных технических и логистических препятствий на пути создания разнообразного адаптивного иммунного ответа.

[00648] Нормальное разнообразие TCR обеспечивается перестройкой генов. Строгие процессы позитивной и негативной селекции в тимусе гарантируют, что только Т-клетки, экспрессирующие $\alpha\beta$ TCR, которые ограничены в распознавании своих собственных пептидов/МНС в пределах диапазона низкого сродства, могут колонизировать периферию. Таким образом, среда тимуса позволяет генерировать пул $\alpha\beta$ Т-клеток, которые являются саморегулирующимися, но не самореактивными.

[00649] Получение разнообразного пула CAR из разных антигенсвязывающих доменов ограничено техническими и финансовыми препятствиями при получении и тестировании ряда антигенсвязывающих доменов. Что еще важнее, так как каждый из антигенсвязывающих доменов (например, фрагментов vL и vH антитела) потенциально способен связывать другие антигены и вызывать нецелевую токсичность, разнообразный пул CAR, основанный исключительно на множестве антигенсвязывающих доменов, потенциально обуславливает повышенный риск токсичности. Соответственно, потенциальное разнообразие такого пула должно быть ограничено для снижения нецелевой токсичности. Настоящее изобретение позволяет преодолеть указанную проблему за счет получения пула разнообразных CAR из единственного антигенсвязывающего домена или нескольких антигенсвязывающих доменов путем присоединения к разным вариантам цепей TCR. Разнообразие пула CAR дополнительно увеличивают за счет применения разных линкеров. Разнообразие Т-клеток, экспрессирующих указанный пул, может быть дополнительно увеличено за счет применения разных вспомогательных модулей и терапевтических контролей согласно описанию в настоящем документе.

[00650] Этот разнообразный пул CAR можно использовать для обеспечения разнообразного иммунного ответа против вызывающих заболевание или связанных с заболеванием клеток, экспрессирующих указанный антиген. Альтернативно, разнообразный пул CAR можно необязательно кодировать штрих-кодом ДНК (SEQ ID NO: 123-128) с использованием методов, известных в данной области, и впоследствии использовать для выбора одного или подмножества CAR с оптимальными биологическими и клиническими характеристиками. Эти характеристики могут включать, но не ограничиваются этим, выполнение биологических анализов *in vitro* (например, цитотоксичность, секреция цитокинов, аффинность связывания, экспрессия на клеточной поверхности, нецелевые эффекты, пролиферация Т-клеток, экспрессия маркеров истощения и терминальная дифференцировка и т. Д.)), эффективность в анализах *in vivo* (например, выживаемость, уменьшение опухоли, персистенция Т-клеток, рост Т-клеток и т. д.) и клинический опыт (например, ремиссия заболевания, частота рецидивов, токсичность и т. д.). CAR по настоящему изобретению можно использовать отдельно или в комбинации с другими природными и синтетическими иммунными рецепторами, известными в данной области, для создания разнообразного пула иммунных эффекторных клеток для профилактики и лечения различных болезненных состояний, вызванных или связанных с клетками, экспрессирующими их целевые антигены.

[00651] Генные фрагменты, кодирующие разные сигнальные пептиды, связывающие домены антител, линкеры, константные цепи TCR, расщепляемые линкеры и селективные маркеры (например, PAC, EGFP, CNB30 и т.п.) искусственно синтезировали в виде единственного фрагмента или нескольких фрагментов, используя сервис коммерческого поставщика (IDT), и применяли в качестве матриц для ПЦР-реакций с праймерами, содержащими подходящие рестрикционные ферменты. Амплифицированные фрагменты расщепляли соответствующими рестрикционными ферментами и затем клонировали в pLENTI-EF1 α (SEQ ID NO: 129), pLENTI-EF1 α -DWPRE (SEQ ID NO: 130), pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 12639) или векторы MSCV-Bgl2-AvrII-Bam-EcoR1-Xho-BstB1-Mlu-Sal-ClaI.I03 (SEQ ID NO: 131) с использованием стандартных методов молекулярной биологии. Фрагменты CAR были клонированы между сайтами Nhe I и Sal I в pLENTI-EF1 α (SEQ ID NO: 129), pLENTI-EF1 α -DWPRE (SEQ ID NO: 130), pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 12639) векторов. Полученный фрагмент затем можно использовать в качестве матрицы в реакции ПЦР с праймерами, содержащими соответствующие рестрикционные ферменты. Амплифицированный фрагмент можно переваривать соответствующими рестрикционными ферментами, а затем клонировать в соответствующий вектор с использованием стандартных методов молекулярной биологии.

[00652] Линии клеток, сконструированные для экспрессии люцифераз (например, Gluc или Nluc) для измерения цитотоксичности разных конструкций, нацеленных на разные антигены поверхности клеток и внутриклеточные антигены, приведены в таблице А. Линии клеток, используемые в указанных экспериментах, целевые антигены на клетках указанных линий и их ростовые среды перечислены в приведенной ниже таблице А. Клетки культивировали при 37°C, в увлажненном инкубаторе с 5% CO₂. Линии клеток получали из базы ATCC, NIH AIDS Reagent Program, или они были доступны в лаборатории.

[00653] Таблица А:

Линия клеток	Условия культивирования	Примеры экспрессируемых целевых антигенов CAR
BC-1	RPMI, 20% ФТС	BCMA, GPRC, CD138
BC-3	RPMI, 20% ФТС	BCMA, GPRC, CD138
BCBL-1	RPMI, 20% ФТС	GPRC, CD138
JSC-1	RPMI, 20% ФТС	GPRC, CD138
MM1S	RPMI, 10% ФТС	CD38, GPRC, CD44, CD200R
U266	RPMI, 10% ФТС	BCMA, WT1/HLA-A2 +, CS1, CLL1, CD138, c-MET, IL6R, CD179b, NY-ESO/HLA-A2, NYBR, LAMP1
L363	RPMI, 10% ФТС	BCMA, GPRC, WT1/HLA-A2 +, CS1, CLL1, CD138, NY-ESO/HLA-A2, NYBR, LAMP1
K562	RPMI, 10% ФТС	CD33, IL1Ra, TnAg
BV173	RPMI, 10% ФТС	CD123, CD179b, IL1Ra, WT1/HLA-A2 +, CXCR 4, FLT3, CD179a
Nalm6	RPMI, 10% ФТС	CD19, CD20, CD22, CD179b, CD179a
HL60	RPMI, 10% ФТС	CD33, CD34, CLL1, IL6R, CD32, CD179

Линия клеток	Условия культивирования	Примеры экспрессируемых целевых антигенов CAR
U937	RPMI, 10% ФТС	CD4, CLL1
RS4: 11	RPMI, 20% ФТС	CD19, фолатный рецептор бета (ФР-бета), ТРФ-бета, CD179b, NKG2DNKG2D, FLT3, CD179a, CD133
MV:411	RPMI, 10% ФТС	FLT 3, CD 123, FRbeta
RAJI	RPMI, 10% ФТС	CD19, CD20, CD22, BCMA, CD38, CD70, CD79, бета-рецептор фолиевой кислоты, CLL1
HEL-92.1.7 (HEL)	RPMI, 10% ФТС	MPL, CD33, CD32, CD200R, Cripto
Jurkat	RPMI, 10% ФТС	TnAg, TSLRP, TSHR, CD4, CD38
Daudi	RPMI, 10% ФТС	BCMA, FRbeta
REC-1	RPMI, 10% ФТС	NKG2D, ROR1, CD19, FCRH5, BAFF-R
KG-1	RPMI, 20% ФТС	CD33, CD34, CD123, TSLRP, EMR2, VISTA, BST1
CEM	RPMI, 10% ФТС	CD5, CD43
U937	RPMI, 10% ФТС	CD4, CLL1
LAMA5	RPMI, 10% ФТС	WT1/HLA-A2
A549	DMEM, 10% ФТС	ROR1, CD22, TIM1, CDH17
HT29	DMEM, 10% ФТС	EGFR, SLEA, c-MET
Molm-13	RPMI, 20% ФТС	FLT3, IL6R, LAMP1, TSLRP, CD4, CSF2 RA, CXCR 4, IL6R, CSF2RA, GPC3, EMR2, BST1
A431	DMEM, 10% ФТС	EGFR, альфа рецептора фолиевой кислоты (FOLR1), Her3
P19	DMEM, 10% ФТС	SSEA
THP-1	RPMI, 10% ФТС	CD32, CD 33, CXCR 4, CD123, CD44, IL6R, бета-рецептор фолиевой кислоты, CD70, LAMP1, FLT3, CSF2RA, IL1RAP
U87MG	DMEM, 10% ФТС	CD276, gpNMB, IL13RA2, MMP16
LoVo	DMEM, 10% ФТС	Фактор ткани, CDH17, EGFR, CEA, RNF43
SKOV-3	DMEM, 10% ФТС	Рецептор фолиевой кислоты альфа (FR1), FSHR, Her2, Her3, LHR, MSLN, TIM1, EPCAM
NCI-H1993	DMEM, 10% ФТС	EGFR
Kasumi-1	RPMI, 20% ФТС	CLEC5A, PR1/HLA-A2, ТРФ-бета,
Jeko-1	RPMI, 20% ФТС	BCMA, ROR1, BAFF-R
PC-3	DMEM, 10% ФТС	CGH, TROP2, PSCA, PSMA. EPCAM, FSHR, CLD18A2 (CLDN18.2), STEAP1
HeLa	DMEM, 10% ФТС	EGFR, FR1, MSLN, TSHR
LNCaP	DMEM, 10% ФТС	EGFR, FSHR, PSCA, PSMA, CD22, Her3, LHR, CLD18A2 (CLDN18.2), STEAP1, BMPR1B
OVCAR-3	DMEM, 10% ФТС	B7H4, CDH6, DLL3, FR1, FSH, LHR, MSLN, PTK7, TnAg, TSHR, L1CAM, LYPD1, CLDN6, UPK1B, CD133, SLC34A2
MEL-624	DMEM, 10% ФТС	CDH19, GD2, GD3, gp100/HLA-A2, gpNMB, HMWMAA, NYESO/HLA-A2, MART1/HLA-A2
LS174-T	DMEM, 10% ФТС	CEA
MEL-526	DMEM, 10% ФТС	GD2
MDA-MB231	DMEM, 10% ФТС	CD324, Muc1
MDA-MB-	DMEM, 10% ФТС	Нектин- 4; WISP1

Линия клеток	Условия культивирования	Примеры экспрессируемых целевых антигенов CAR
453		
L1236	RPMI, 20% ФТС	CD30, CD23, PDL1
L428	RPMI, 20% ФТС	CD30, CD123, CCR4, PDL1
L540	RPMI, 20% ФТС	CD30, CCR4, PDL1
Линька-16	RPMI, 20% ФТС	IL1ra, NKG2D
CEM	RPMI, 10% ФТС	CD5
МГ-63	DMEM, 10% ФТС	IL13RA2
Карпасс-299	RPMI, 20% ФТС	Алк, GPRC, PDL1
MCF7	DMEM, 10% ФТС	B7D4, CD276, TROP2, Her3, Muc1, LewisY, LHR, рецептор пролактина (PRLR), Liv-1
AA-2	RPMI, 10% ФТС	Гликопротеин env ВИЧ1 (gp120)
HL2/3	DMEM, 10% ФТС	Гликопротеин env ВИЧ1 (gp120)
TF228.1.16	DMEM, 10% ФТС	Гликопротеин env ВИЧ1 (gp120), CCR4
ТТ	DMEM, 10% ФТС	TGF-бета, TSHR, GFRalpha4
DMS79	RPMI, 10% ФТС	Фукозил-GM1, Slea (CA19.9; сиалиновый антиген Льюиса)
LAN-5	DMEM, 10% ФТС	ALK, DLL3, GFRalpha4, FUCOSYL-GM1
PEER1	RPMI, 10% ФТС	TSHR
SK-MEL-37	DMEM, 10% ФТС	DLL3, GD2
F9	DMEM, 10% ФТС	SSEA
HepG2	DMEM, 10% FBS	GPC3, AFP/HLA-A2, CLDN6

[00654] Клеточная линия Jurkat (клон Е6-1), сконструированная с использованием NFAT-зависимого репортерного гена GFP, была подарком доктора Артура Вайса из UCSF. Клетки Jurkat поддерживали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% FBS, пенициллина и стрептомицина.

[00655] Генерация лентивирусов и ретровирусов. Лентивирусы были получены путем трансфекции клеток 293FT с использованием фосфата кальция, как описано ранее (Matta, Hozayev, Tomar, Chugh, & Chaudhary, 2003). Клетки 293FT выращивали в среде DMEM с 10% FCS, 4 mM L-глутамина, 0,1 mM незаменимыми аминокислотами MEM и 1 mM пируватом натрия MEM (далее обозначаемая как DMEM-10). Для генерации лентивируса клетки 293FT высевали в 10 мл среды DMEM-10 без антибиотиков в 10-сантиметровый планшет для культивирования ткани так, чтобы они были приблизительно на 80% конфлюэнтными в день трансфекции. На следующий день клетки трансфицировали кальциево-фосфатной трансфекцией с использованием 10 мкг лентивирусной экспрессионной плазмиды, кодирующей различные гены, 7,5 мкг плазмиды PSPAX2 и 2 мкг плазмиды PLP/VSVG. В некоторых экспериментах смесь для трансфекции также содержала от 2,5 до 5 мкг плазмиды, кодирующей ВИЧ1 Vif (SEQ ID NO: 11269). Примерно через 15-16 часов после трансфекции 9 мл среды удаляли и заменяли 5 мл свежей среды. Примерно через 48 часов после трансфекции собирали 5 мл супернатанта (первый сбор) и заменяли 5 мл свежей среды. Приблизительно через 72 часа после трансфекции собирали все среды (второй сбор, обычно около 6 мл). Собранные супернатанты объединяли и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 1 минуты для

удаления любого клеточного дебриса и неприлипающих клеток. Бесклеточный супернатант фильтровали через шприцевой фильтр 0,45 мкм. В некоторых случаях супернатант дополнительно концентрировали ультрацентрифугированием при 18500 об/мин в течение 2 часов при 4 ° С. Осадок вируса ресуспендировали в 1/10 первоначального объема в среде XVIVO. Вирус использовали либо в свежем виде для заражения клеток-мишеней, либо хранили замороженными в аликвотах при -80 ° С.

[00656] Инфекция Т-клеток и МКПК. Клетки лейкоцитомоноцитарного слоя получали от здоровых деидентифицированных здоровых доноров из банка крови Детской больницы Лос-Анджелеса (Children Hospital of Los Angeles) и использовали для выделения моноклеарных клеток периферической крови (МКПК) путем центрифугирования в градиенте Ficoll-Нугае. Использовали собственно МКПК либо выделяли Т-клетки с применением покрытых CD3 магнитных микрогранул (Miltenyi Biotech), следуя инструкциям производителя. МКПК или выделенные Т-клетки ресуспендировали в среде XVIVO (Lonza) с добавлением 10 нг/мл антитела к CD3, 10 нг/мл антитела к CD28 и 100 МЕ рекомбинантного IL2 человека. Клетки культивировали при 37°C в увлажненном инкубаторе с 5% CO₂. Клетки активировали в описанной выше среде в течение 1 дня до инфицирования лентивирусными векторами. В целом, первичные клетки (например Т-клетки) инфицировали утром с применением центрифужного способа (1800 об/мин в течение 90 минут при 37°C с 300 мкл концентрированного вируса, ресуспендированного в среде XVIVO с 8 мкг/мл Полибрена® (Sigma, Кат. № H9268). Среду заменяли вечером и повторяли инфицирование в течение еще двух дней, в общей сложности 3 раза. После 3-его инфицирования клетки осаждали и ресуспендировали в свежей среде XVIVO, содержащей 10 нг/мл антитела к CD3, 10 нг/мл антитела к CD28 и 100 МЕ рекомбинантного IL2 человека, с добавлением соответствующих антибиотиков (при необходимости), и помещали во флакон для клеточных культур, если не указано иное. Клетки культивировали в описанной выше среде в течение 10-15 дней, если не использовали отбор с лекарственным средством, и в течение 20-30 дней, если использовали отбор с лекарственным средством. В тех случаях, когда клетки инфицировали лентивирусом, экспрессирующим EGFP, их размножали без отбора с лекарственным средством или проточно-цитометрически сортировали для обогащения по EGFP-экспрессирующим клеткам. Для инфицирования раковых линий клеток приблизительно 500 000 клеток инфицировали 2 мл неконцентрированного вирусного супернатанта в общем объеме 3 мл с Полибреном® (Sigma, Кат. № H9268). Затем, на следующее утро, клетки осаждали и ресуспендировали в среде с соответствующими антибиотиками, и помещали во флакон для клеточных культур для отбора.

[00657] По существу аналогичную описанию выше для получения лентивирусных векторов процедуру использовали для получения ретровирусных векторов, за исключением того, что клетки 293FT, как правило, трансфицировали в планшетах размером 10 см для тканевых культур в 10 мл среды DMEM-10 с применением 10 мкг ретровирусной конструкции, 4 мкг рКАТ и 2 мкг плазмиды VSVG. Вирус собирали и

инфицировали целевые клетки по существу согласно описанию выше для лентивирусных векторов.

[00658] Антитела и лекарство. Дигитонин был приобретен у Sigma (каталожный номер D141), и исходный раствор 100 мг/мл был приготовлен в ДМСО. Разбавленный раствор 1 мг/мл готовили в PBS. Конечная концентрация дигитонина, используемого для лизиса клеток, составляла 30 мкг/мл, если не указано иное.

[00659] Производство и введение CAR-T клинической степени

Для производства CAR-T клинической степени лентивирусы cGMP, кодирующие CAR, генерируются с использованием коммерческих источников (например, Lentigen, Lonza и т. Д.). Т-клетки собирают от доноров (аутологичных или аллогенных) с помощью лейкофереза. CAR-T клетки производятся с использованием автоматизированной закрытой системы CLINIMAC Prodigy (Miltenyi Biotech), как описано (Zhu F, Shah N. et al, Cytotherapy, 2017), и в соответствии с инструкциями производителя. Используется множественность инфекции (MOI) от 5 до 10. Альтернативные методы производства CAR-T клинической степени, такие как Cosoop (Lonza) и ручные открытые системы, известны в данной области и могут быть использованы в альтернативном варианте осуществления изобретения. CAR-T-клетки вводятся пациенту после лимфо-истощающей химиотерапии в возрастающих дозах, начиная примерно с 1×10^6 CD3 CAR-T-клеток/кг.

[00660] ELISA на IL2. Человеческий IL2, IFN γ , IL6 и TNF α измеряли в супернатанте клеточной культуры экспрессирующих CAR эффекторных клеток Jurkat-NFAT-GFP или Т-клеток, которые были совместно культивированы со специфическими клеточными линиями-мишенями в течение 24-96 часов с использованием наборов ELISA от Системы НИОКР (Миннеаполис, Миннесота) и следование рекомендациям производителя.

[00661] FACS-анализ. Мышиное моноклональное антитело против человеческого с Мус APC (каталожный № IC3696A) было от R&D Systems (Миннеаполис, Миннесота). Биотинилированный белок L был приобретен у GeneScript (Piscataway, NJ), восстановлен в фосфатно-солевом буфере (PBS) в концентрации 1 мг/мл и хранится при 4 °C. Стрептавидин-APC (SA1005) был приобретен в ThermoFisher Scientific.

[00662] Для обнаружения CAR с использованием окрашивания Мус собирали 1×10^6 клеток и трижды промывали 3 мл ледяного $1 \times$ PBS, содержащего 4% промывочного буфера бычьего сывороточного альбумина (BSA). После промывки клетки ресуспендировали в 0,1 мл ледяного промывочного буфера, содержащего 10 мкл APC-конъюгированного антитела Мус, и инкубировали в темноте в течение 1 часа с последующими двумя промываниями ледяным промывочным буфером.

[00663] Для обнаружения CAR с использованием окрашивания протеином L собирали 1×10^6 клеток и трижды промывали 3 мл ледяного $1 \times$ PBS, содержащего 4% промывочного буфера бычьего сывороточного альбумина (BSA). После промывки клетки ресуспендировали в 0,1 мл ледяного промывочного буфера, содержащего 1 мкг белка L, при 4°C в течение 1 часа. Клетки промывали трижды ледяным промывочным буфером, а

затем инкубировали (в темноте) с 10 мкл APC-конъюгированного стрептавидина в 0,1 мл промывочного буфера в течение 30 минут с последующими двумя промываниями ледяным промывочным буфером. FACS проводился с использованием анализатора FACSVerse от BD Biosciences.

[00664] Анализ клеточной смерти. Для измерения гибели клеток использовали новый анализ, основанный на эктопической цитозольной экспрессии Gluc или NLuc, как описано в PCT/US17/52344 «Анализ нерадиоактивной цитотоксичности».

[00665] Разработка анализа для обнаружения экспрессии CAR и их антигенов. Для обнаружения экспрессии CAR и их антигенов-мишеней использовали репортерный анализ на основе люциферазы, обозначенный как Matador Assay, как описано в PCT/US2017/025602 «Высокочувствительный и специфический репортерный анализ на основе люциферазы для обнаружения антигена».

[00666] Анализ Jurkat NFAT-GFP на CAR. Клетки Jurkat-NFAT-GFP сконструированы таким образом, что промотор IL-2, несущий сайты связывания NFAT, клонируется выше гена GFP. Эти клетки были использованы для изучения передачи сигналов через TCR и CAR. Различные CAR стабильно экспрессировались в клетках Jurkat NFAT-GFP с помощью лентивирусного переноса генов с последующей селекцией пуромицином. Экспрессирующие CAR клетки Jurkat-NFAT-GFP совместно культивировали с клетками-мишенями при соотношении E: T приблизительно 1: 2 в течение приблизительно от 4 часов до 18 часов. Когда взаимодействие между CAR и их антигеном-мишенью приводит к активации пути NFAT, индуцируется экспрессия GFP. Следовательно, клетки Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующие CAR, демонстрируют повышенные уровни экспрессии GFP, когда они взаимодействуют с линиями клеток-мишеней, экспрессирующих рецептор для CAR.

[00667] Индукция экспрессии GFP путем совместного культивирования клеток Jurkat -NFAT-GFP, экспрессирующих различные конструкции CAR и разные клетки-мишени, изучалась в основном, как описано ранее (Wu, Roybal, Puchner, Onuffer, & Lim, 2015). Экспрессию GFP контролировали с помощью анализа FACS. В качестве контроля использовали клетки Jurkat -NFAT-GFP (родительские). Результаты с различными CAR приведены в следующей сводной **таблице 14**. Названия различных CAR, их SEQ ID NO, составляющие антигенсвязывающие домены и цепи TCR могут быть определены со ссылкой на **таблицы 14**. CAR считается положительным в анализе, если CAR, экспрессирующие клетки Jurkat -NFAT-GFP, демонстрируют больший% GFP-положительных клеток при культивировании с линией клеток-мишеней по сравнению с родительскими клетками Jurkat -NFAT-GFP. Таким образом, клетки Jurkat -NFAT-GFP, экспрессирующие BCMA CAR, представленные SEQ ID NO: 495, показали большую индукцию экспрессии GFP при совместном культивировании с клетками L363 и U266 по сравнению с родительскими клетками Jurkat -NFAT-GFP. Знаки +/-, +, 2+ и т.д. после названия клеточных линий указывают на относительную степень положительности анализа Jurkat -NFAT-GFP, измеренную с помощью% GFP-положительных клеток после

культивирования CAR, экспрессирующего Jurkat -NFAT. -GFP клетки с этой клеточной линией. Результаты также демонстрируют, что различные CAR, содержащие связывающий домен, полученный из одного и того же антитела, демонстрируют большое разнообразие в их способности активировать передачу сигналов NFAT с использованием этого анализа при воздействии на идентичную клеточную линию в зависимости от типа CAR. Кроме того, большое разнообразие ответов против одной и той же линии клеток-мишеней наблюдается с клетками Jurkat, экспрессирующими CAR, содержащими разные антигенсвязывающие домены, нацеленные на один и тот же антиген (*например*, CAR, имеющие антигенсвязывающие домены, полученные из разных антител BCMA), даже когда CAR имеют общие та же архитектура CAR (*например*, BBz CAR или SIR). Наконец, клетки Jurkat, экспрессирующие CAR, нацеленные на разные антигены (*например*, CD19 по сравнению с CD20), демонстрируют различный ответ при воздействии на одну и ту же линию клеток-мишеней. Таким образом, разнообразный иммунный ответ может быть вызван против одной клетки-мишени путем объединения CAR с различными цепями TCR, линкерами, антигенсвязывающими доменами и специфичностью мишени. В таблице 14 также суммированы результаты анализа цитотоксичности Т-клеток на основе GLuc (Matador Assay), наблюдаемых с различными CAR при воздействии на их клеточные линии-мишени. Знаки +/- + и 2+ и т.д. указывают на степень цитотоксичности наблюдали с использованием GLuc цитотоксичности следующий 4-96 час сек совместной культуре линии клеток - мишеней с CAR -expressing Т - клеток по сравнению с контрольными Т - клеток, *т.е.*, Т-клетки, не экспрессирующие CAR или нерелевантный CAR (*например*, CAR, нацеленный на антиген, не экспрессируемый на конкретной линии клеток-мишеней), когда анализ проводят в аналогичных условиях. Опять же, аналогично результатам, полученным с клетками Jurkat -NFAT-GFP, Т-клетки, экспрессирующие различные CAR, демонстрируют большое разнообразие в своей способности проявлять цитотоксичность при воздействии на их клетки-мишени, экспрессирующие антиген, в зависимости от их цепей TCR, линкеров, антиген-связывающих доменов, мишеней специфичность и целевую клеточную линию. Подобное разнообразие в способности индуцировать продукцию цитокинов (*например*, IL2, TNF α и IFN γ) наблюдается среди Т-клеток, экспрессирующих различные CAR, в зависимости от их цепей TCR, линкеров, антигенсвязывающих доменов, целевой специфичности и линии клеток-мишеней при их воздействии. к линии клеток-мишеней в сопоставимых условиях. На основе результатов этого анализа для дальнейших исследований были выбраны различные антигенсвязывающие домены (*например*, scFv), линкеры, тип и класс CAR, цепи TCR и их конфигурации, которые были положительными в анализах цитотоксичности NFAT-GFP и Т-клеток.

[00668] ТАБЛИЦА 14

			АНАЛИЗ NFAT-GFP	Анализ цитотоксичности T-CELL
--	--	--	-----------------	-------------------------------

Мишень	SEQ ID NO	НАЗВАНИЕ	Положительные клеточные линии	Положительная клеточная линия
BCMA	446	CD8SP-BCMA-Am08-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	L363 (2+), U266 (2+)	
BCMA	543	CD8SP-BCMA-BB-CAR02-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-BB-CAR02-vH-Myc-CD8TM-BBz		L363 (+), U266 (+)
BCMA	545	CD8SP-BCMA-BB-CAR02-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-BB-CAR02-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC		L363 (+), U266 (+)
BCMA	495	CD8SP-BCMA-Am14-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	L363 (2+), U266 (2+)	L363 (+), U266 (+)
BST1	8506	CD8SP-hu-BST1-A1-vL-Gly-Ser-Linker-hu-BST1-A1-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	Касуми (+/-)	HL60 (+)
BST1	8604	CD8SP-hu-BST1-A3-vL-Gly-Ser-Linker-hu-BST1-A3-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	Касуми (+/-), MOLM13 (+/-)	HL60 (+)
BST1	8553	CD8SP-hu-BST1-A2-vL-Gly-Ser-Linker-hu-BST1-A2-vH-Myc-CD8TM-BBz	HL60 (+/-)	
BST1	8602	CD8SP-hu-BST1-A3-vL-Gly-Ser-Linker-hu-BST1-A3-vH-Myc-CD8TM-BBz	Касуми (2+), MOLM13 (+/-), HL60 (+/-)	
CD19	791	CD8SP-CD19-AM1-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-CD19-AM1-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	RAJI (2+), Nalm6 (+), REH (+/-)	
CD19	984	CD8SP-hu-CD19-USC1-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-hu-CD19-USC1-LH4-vH-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2+), Nalm6 (+), REH (+)	
CD19	742	CD8SP-CD19-9B7-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-CD19-9B7-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	RAJI (+), Nalm6 (+/-), REH (+/-)	
CD19	937	CD8SP-CD19-DART1-vL-Gly-Ser-Linker-CD19-DART1-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	RAJI (2+), NALM6 (2+)	RAJI (+), NALM6 (+)
CD19	935	CD8SP-CD19-DART1-vL-Gly-Ser-Linker-CD19-DART1-vH-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2+), NALM6 (2+)	
CD19	788	CD8SP-CD19-AM1-vL-Gly-Ser-Linker-CD19-AM1-vH-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2+), NALM6 (2+)	

CD19	739	CD8SP-CD19-9B7-vL-Gly-Ser-Linker-CD19-9B7-vH-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2+), NALM6 (2+)	
CD19	887	CD8SP-hu-CAT18-1-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (3+), NALM6 (3+)	
CD19	838	CD8SP-hCD19-CAT17-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (4+), NALM6 (3+)	RAJI (+)
CD19	3956	CD8-hCD19-EUK5-13-vL-IgCL-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-hCD19-EUK5-13-vH-IgG1-CH1-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	RAJI (2+), NALM6 (2+)	
CD19	8663	CD8SP-hu-Bu13-vL- [hTCRb-KAC-ECD-Bam-CD3zECDTMCP-opt] -F-P2A-SP-hu-Bu13-vH- [hTCRa-CSDVP-ECD-Kpn-CD3zECDTMCP-opt2]	RAJI (+), NALM6 (+)	
CD19	8651	CD8SP-hu-Bu13-vL-Gly-Ser-Linker-hu-Bu13-vH-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2+), NALM6 (+)	RAJI (+/-), NALM6 (+)
CD19	8655	CD8SP-hu-Bu13-vL-PG4SP-v2- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-hu-Bu13-vH-PG4SP- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	RAJI (2+), NALM6 (2+)	
CD19	8654	CD8SP-hu-Bu13-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-hu-Bu13-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	RAJI (3+), NALM6 (3+)	RAJI (+), Nalm6 (+), Bv173 (+)
CD19	8634	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-hu-Bu13-vL-Gly-Ser-Linker-hu-Bu13-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	RAJI (+) HAJM6 (+/-)	RAJI (+), Nalm6 (+), Bv173 (+)
CD19	3955	CD8-hCD19-EUK5-13-vL-IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-hCD19-EUK5-13-vH-IgG1-CH1-KPN-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-Xba-PAC	RAJI (3+) NALM6 (2+)	
CD19	3961	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-CD19MM-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	RAJI (2+), NALM6 (2+)	
CD19-AFP	3964	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-AFP-61-scFv-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	RAJI (2+), NALM6 (+)	

CD19- CD20	3963	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho- CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP- CD20-2F2-scFv-Mlu- CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A- PAC	RAJI (+), NALM6 (+)	
CD19- CD22	3966	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho- CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP- hSC22-10-HL-scFv-Mlu- CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A- PAC	RAJI (+), NALM6 (+)	
CD19- CD22	3965	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho- CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP- CD22-h10F4v2-scFv-Mlu- CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A- PAC	RAJI (+), NALM6 (+)	
CD19- CD123	3967	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho- CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP- CD123-DART1-scFv-Mlu- CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A- PAC	RAJI (+), NALM6 (+), L428 (+)	
CD19- CD123	3962	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho- CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP- CD123-DART2-scFv-Mlu- CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A- PAC	RAJI (+), NALM6 (+), L428 (2+)	
CD19- WT1	3968	CD8SP-CD19Bu12-scFv-Xho- CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP- WT1-Ab5-scFv-Mlu- CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A- PAC	RAJI (+), NALM6 (+)	
CD20	1084	CD8SP-hu-Ubli-1-v4-vL-Gly- Ser-Linker-hu-Ubli-1-v4-vH- Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG- T2A-PAC	RAJI (2+)	RAJI (+)
CD20	1082	CD8SP-hu-Ubli-1-v4-vL-Gly- Ser-Linker-hu-Ubli-1-v4-vH- Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2+)	RAJI (+)
CD20	1034	CD8SP-CD20-HL-vH-Gly-Ser- Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2+)	
CD22	1131	CD8SP-hCD19-hu-HA22-1-vL- Gly-Ser-Linker-hCD19-hu-HA22- 1-vH-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2+), NALM6 (+/-)	
CD44v6	1181	CD8SP-CD44v6-USC1-HL4-vH- Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM- BBz	L363 (+/-) U266 (+/-)	
CLDN6	1526	CD8SP-CLDN6-USC2-LH4-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP- CLDN6-USC2-LH4-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-PAC		HepG2 (+/-), OVCAR3 (+/-)
CLDN6	1523	CD8SP-CLDN6-USC2-LH4-vL- Gly-Ser-Linker-CLDN6-USC2-	HepG2 (+), OVCAR (+)	

		LH4-vH-Myc-CD8TM-BBz		
CLDN6	1476	CD8SP-CLDN6-USC1-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-CLDN6-USC1-LH4-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	HepG2 (+/-), OVCAR3 (+/-)	
CRIPTO	8879	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-hu-Cripto-L1H2-vL-Gly-Ser-Linker-hu-Cripto-L1H2-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A- PAC		HEL (+)
DLL3	1575	CD8SP-DLL3-AM6-HL-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-DLL3-AM6-HL-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-PAC	SKMEL 37 (+/-)	
DLL3	1622	CD8SP-DLL3-AM14-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	LAN5 (+), SKMEL 37 (+/-)	SKMEL 37 (+)
DLL3	1573	CD8SP-DLL3-AM6-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	LAN5 (+/-), SKMEL 37 (+/-)	
EGFRvIII	1771	CD8SP-EGFRviii-H2M1863N2-HL-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-EGFRviii-H2M1863N2-HL-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC		HeLa (+), HeLa EGFRvIII (+)
EGFRvIII	1769	CD8SP-EGFRviii-H2M1863N2-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	Хелла (+/-), HeLa EGFR (+/-), LoVo (+/-), A431 (4+)	
EMR2	1915 r.	CD8SP-EMR2-USC2-V4-vL-Gly-Ser-Linker-EMR2-USC2-V4-vH-Myc-CD8TM-BBz	MOLM13 (+), HL60 (+/-)	
FOLR1	2064	CD8SP-FOLR1-USC1-HL4-vL-Gly-Ser-Linker-FOLR1-USC1-HL4-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	Хелла (2+), A431 (+/-)	
gpA33	9026	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-hu-gpA33-vL-Gly-Ser-Linker-hu-gpA33-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC		MOLM13 (+)
GPC3	2210	CD8SP-GPC3-USC2-HL-V4-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	HepG (3+)MOLM13 (+/-)	
GPC3	2161	CD8SP-GPC3-USC1-HL-V4-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	HepG (3+)MOLM13 (+/-)	
Her2	2309	CD8SP-Her2-169-vL-Gly-Ser-Linker-Her2-169-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-		MCF7 (+/-)

		PAC		
Her2	2457	CD8SP-Her2-XMT-1520-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-Her2-XMT-1520-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	MCF7 (2+)	
Her2	2408	CD8SP-Her2-XMT-1518-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-Her2-XMT-1518-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	MCF7 (+)	
Her2	2405	CD8SP-Her2-XMT-1518-vL-Gly-Ser-Linker-Her2-XMT-1518-vH-Myc-CD8TM-BBz	MCF7 (+)	
Her2	2454	CD8SP-Her2-XMT-1520-vL-Gly-Ser-Linker-Her2-XMT-1520-vH-Myc-CD8TM-BBz	MCF7 (2+)	
Her2	2456	CD8SP-Her2-XMT-1520-vL-Gly-Ser-Linker-Her2-XMT-1520-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	MCF7 (+/-)	
Her2	2405	CD8SP-Her2-XMT-1518-vL-Gly-Ser-Linker-Her2-XMT-1518-vH-Myc-CD8TM-BBz	MCF7 (2+)	
Her2	2356	CD8SP-Her2-huMab4D5-D98W-vL-Gly-Ser-Linker-Her2-huMab4D5-D98W-vH-Myc-CD8TM-BBz	MCF7 (+/-)	
IL1RAP	9242	CD8SP-IL1RAP-IAPB63-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-IL1RAP-IAPB63-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	MOLM13 (+/-)	MOLM13 (+)
IL1RAP	9222	CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-IL1RAP-IAPB63-vL-Gly-Ser-Linker-IL1RAP-IAPB63-vH-Myc-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC		MOLM13 (+)
Интегрин B7	2552	CD8SP-Hu-IntB7-MMG49-vL-Gly-Ser-Linker-Hu-IntB7-MMG49-vH-Myc-CD8TM-BBz		L363 (+), U266 (+)
LYPD1	2650	CD8SP-LYPD1-HL-V4-vL-Gly-Ser-Linker-LYPD1-HL-V4-vH-Myc-CD8TM-BBz	OVCAR3 (2+)	
MSLN	2849	CD8SP-MSLN-237-HL-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN-237-HL-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	SKOV3 (+)	SKOV3 (7+)
MSLN	2800	CD8SP-MSLN-5-HL-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN-5-HL-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	SKOV3 (+)	SKOV3 (5+)

MSLN	2944	CD8SP-MSLN-HuAM15-vL-Gly-Ser-Linker-MSLN-HuAM15-vH-Myc-CD8TM-BBz	SKOV3 (+)	
MSLN	2749	CD8SP-MSLN-3-HL-AM-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	SKOV3 (+)	
MSLN	2798	CD8SP-MSLN-5-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	SKOV3 (+/-)	
MSLN	9435	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-Gly-Ser-Linker-MSLN-hu22A10-vH-Myc-CD8TM-BBz	SKOV3 (2+)	
MSLN	9387	CD8SP-MSLN-7D9-v3-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	SKOV3 (3+)	
MSLN	9389	CD8SP-MSLN-7D9-v3-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN-7D9-v3-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	SKOV3 (2+)	
MSLN	9398	CD8SP-MSLN-7D9-v3-vL-[hTCRb-KAC-ECD-Bam-CD3zECDTMCP-opt] -F-P2A-SP-MSLN-7D9-v3-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-Kpn-CD3zECDTMCP-opt2]	SKOV3 (+)	
MSLN	9439	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-PG4SP-v2-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-PG4SP-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	SKOV3 (2+)	SKOV3 (+)
MSLN	9447	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-[hTCRb-KAC-ECD-Bam-CD3zECDTMCP-opt] -F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-Kpn-CD3zECDTMCP-opt2]	SKOV3 (+)	
MSLN	9419	CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-Gly-Ser-Linker-MSLN-hu22A10-vH-Myc4-[preTCRa-Del48] -F-F2A-PAC	SKOV3 (+/-)	SKOV3 (+)
MSLN	2898	CD8SP-MSLN76923-HL-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN76923-HL-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-PAC		SKOV3 (+/-)
MSLN	9369	CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-MSLN-7D9-v3-vL-Gly-Ser-Linker-MSLN-7D9-v3-vH-Myc-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	SKOV3 (+)	SKOV3 (+)
Muc17	3045	CD8SP-Muc17-11-CN-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-Muc17-11-CN-vH-[hTCRb-	SKOV3 (+)	

		KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC		
SLC34A2	3581	CD8SP-huMX35-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-huMX35-LH4-vH-Myc-CD8TM-BBz	OVCAR3 (3+)	
Нектин-4	3092	CD8SP-нектин4-66-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	MDAMB231 (+/-), MCF7 (2+)	MDAMB231 (+), MCF7 (+)
PRLR	3143	CD8SP-PRLR-CN-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-PRLR-CN-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	MCF7 (+)	
PRLR	3191	CD8SP-PRLR-USC2-HL-V4-vL-Gly-Ser-Linker-PRLR-USC2-HL-V4-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	MCF7 (2+)	MCF7 (+/-)
PRLR	3140	CD8SP-PRLR-CN-vL-Gly-Ser-Linker-PRLR-CN-vH-Myc-CD8TM-BBz	MCF7 (2+)	
PSMA	3241	CD8SP-hu106mPSMA-4-HL-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-hu106mPSMA-4-HL-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC		PC3 (+), LNCAP (+)
PSMA	3290	CD8SP-PSMA-76-HL-AM-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-PSMA-76-HL-AM-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	PC3 (+/-)	
PSMA	3239	CD8SP-hu106mPSMA-4-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	PC3 (+/-)	
PSMA	3337	CD8SP-PSMA-83A12-HL-AM-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	PC3 (+/-)	
RNF43	3386	CD8SP-RNF43-USC1-HL4-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	LoVo (+/-)	LoVo (+/-)
ROR1	9516	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-ROR1-DART4-vL-Gly-Ser-Linker-ROR1-DART4-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC		Джеко1 (+)
IIIAG	3534	CD8SP-STEAP1-USC1-HL4-vL-Gly-Ser-Linker-STEAP1-USC1-HL4-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	PC3 (+) LNCAP (+/-)	
IIIAG	9565	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-STEAP1-hu120-vL-Gly-Ser-Linker-STEAP1-hu120-vH-Myc- [hTCRa-		PC3 (+) LNCAP (+)

		CSDVP] -F-F2A-PAC		
TSHR	3630	CD8SP-TSHR-hu-3BD10-vL-Gly-Ser-Linker-TSHR-hu-3BD10-vH-Myc-CD8TM-BBz		MOLM13 (1.5+)
UISP1	3924	CD8SP-hu-UISP1-USC2-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-hu-UISP1-USC2-LH4-vH-Myc-CD8TM-BBz	MDAMB231 (+/-)	
UPK1B	3730	CD8SP-hUPK1B-USC2-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-hUPK1B-USC2-LH4-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	OVCAR3 (2+) Sudhl1 (+)	
UPK1B	3681	CD8SP-hUPK1B-USC1-LH4-vL-Gly-Ser-Linker-hUPK1B-USC1-LH4-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	Sudhl1 (+)	
UPK1B	3682	CD8SP-hUPK1B-USC1-LH4-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-hUPK1B-USC1-LH4-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	OVCAR3 (2+) Sudhl1 (+)	OVCAR (2+), Sudhl 1 (1.5+)
ВІСТА	3780	CD8SP-huVISTA-JJ-USC2-v4-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-huVISTA-JJ-USC2-v4-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	KT1 (+/-) MOLM13 (+/-) HL60 (+/-)	
ВІСТА	3826	CD8SP-huVISTA-USC1-v4-vL-Gly-Ser-Linker-huVISTA-USC1-v4-vH-Myc-CD8TM-BBz		MOLM13 (+)
BCMA	12755	CD8SP-BCMA-Am06-HL-Mlu-MYC-CD8TM-BBZ-XS-T2A-Pac	L363 (+), U266 (+)	
BCMA	12894	CD8SP-BCMA-huC13-F12-vL-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-BCMA-huC13-F12-vH-Myc-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	L363 (2+), U266 (2+)	
BCMA	546	CD8SP-BCMA-BB-CAR02-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-BCMA-BB-CAR02-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-PAC	L363 (2+), U266 (+)	
BCMA	497	CD8SP-BCMA-Am14-HL-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-BCMA-Am14-HL-vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-PAC	L363 (2+), U266 (+)	
BCMA	12921	BCMA-huC13-F12vL-Myc2-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-BCMA-huC13-F12vH-MYC4-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	L363 (+), U266 (+)	L363 (+), U266 (+)

BCMA	449	CD8SP-BCMA-Am08-HL-vL-PG4SP-v2- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-BCMA-Am08-HL-vH-PG4SP- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	L363 (+), U266 (+)	
BCMA	16316	CD8SP-BCMA-huC13-F12-BBz	L363 (2+), U266 (+)	L363 (+), U266 (+). Raji (+), NALM6 (+)
BCMA	13028	CD8SP-BCMA-J6M0-vL- [hTCRβ-KACIAH] -F-P2A-SP-BCMA-J6M0-vH-Mlu-huTCRα-CSDVP	L363 (+/-)	
BCMA	12922	CD8SP-BCMA-huC13-F12-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-BCMA-huC13-F12-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	L363 (+), U266 (+)	L363 (+), U266 (+)
BCMA	12944	CD8SP-BCMA-huC13-F12-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-BCMA-huC13-F12-vH- [hTCRa-T48C] -F-F2A-K13-opt	L363 (3+), U266 (3+)	
BCMA		BCMA-HuC12A3-L3H3-BBZ	L363 (1.5+), U266 (+)	L363 (+), U266 (+). Raji (+), NALM6 (+)
BCMA	12890	CD8SP-BCMA-huC12A3-L3H3-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-BCMA-huC12A3-L3H3-vH- [hTCRa-T48C]		L363 (+), U266 (+). Raji (+), NALM6 (+)
BCMA	12943	CD8SP-BCMA-huC13-F12-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-BCMA-huC13-F12-vH- [hTCRa-T48C]		L363 (+), U266 (+). Raji (+), NALM6 (+)
BCMA	13102	CD8SP-BCMA-mJ22-9-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-BCMA-mJ22-9-vH- [hTCRa-T48C]	L363 (+), U266 (+). Raji (+), NALM6 (+/-), Daudi (+)	L363 (+), U266 (+)
BCMA	12996	CD8SP-BCMA-huJ22-10-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-BCMA-huJ22-10-vH- [hTCRa-T48C]	L363 (+), U266 (+). Raji (+), NALM6 (+/-), Daudi (+)	L363 (+), U266 (+)
BCMA	12807	CD8SP-BCMA-hu72-vL-Gly-Ser-Linker-BCMA-hu72-vH-Myc-CD8TM-BBz	RAJI (2.5+), L363 (2.5+), U266 (3+)	
BCMA	12837	CD8SP-BCMA-hu72-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-BCMA-hu72-vH- [hTCRa-T48C]	RAJI (3+), L363 (4+), U266 (4+)	
BCMA	12839	CD8SP-BCMA-hu72-vL- [hTCRa-T48C] -F-P2A-SP-BCMA-hu72-vH- [hTCRa-S57C]	RAJI (3+), L363 (4+), U266 (2.5+)	

CD19	895	CD8SP-hu-CAT18-1-HL-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP- hu-CAT18-1-HL-vH- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-PAC	RAJI (2+), NALM6 (2+)	RAJI (+), NALM6 (+)
CD19	846	CD8SP-hCD19-CAT17-HL-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP- hCD19-CAT17-HL-vH- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-PAC	RAJI (2+), NALM6 (2+)	RAJI (+), NALM6 (+)
CD19	16328	CD8SP-huCD19-mROO5-1- (vL- vH) -CD3e-ECDTMCP-opt2- T2A-PAC	RAJI (2+), NALM6 (2+)	
CD19	16239	CD8SP-huCD19-mROO5-1- (vL- vH) -CD3d-ECDTMCP-opt2- T2A-PAC	RAJI (+), NALM6 (+)	
CD19	16317	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1- Mlu-CD8TM-BBZ	RAJI (1.5+), NALM6 (1.5+)	RAJI (+), NALM 6 (+)
CD19	14057	CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP- huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa- T48C] -F-F2A-K13-opt	RAJI (2+), NALM6 (4+)	RAJI (+), NALM6 (+)
CD19	14056	CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP- huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa- T48C]	RAJI (2+), NALM6 (3+)	RAJI (+), NALM6 (+)
CD19	16318	CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP- huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-K13-opt	RAJI (+), NALM6 (2+)	RAJI (+), NALM 6 (+)
CD19	16311	CD8SP-FMC63-BBz		RAJI (+), NALM 6 (+)
CD19	14035	CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP- huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-PAC		RAJI (+), NALM6 (+)
CD19	16317	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1- Mlu-CD8TM-BBZ		RAJI (+), NALM6 (+), Bv173 (+), Rec1 (+)
CD19	16311	CD8SP-FMC63-BBz		RAJI (+), NALM6 (+), Bv173 (+), Rec1 (+)
CD19	8651	CD8SP-hu-Bu13-vL-Gly-Ser- Linker-hu-Bu13-vH-Myc- CD8TM-BBz		RAJI (+), NALM6 (+), Bv173 (+), Rec1 (+)
CD19-Hemo		CD8SP-CD19-hu-mROO5-1- Mlu-CD8TM-Asc-hCD3z-xba- P2A-Bam-hNEMO-D23V-K277A		RAJI (+), NALM6 (+), Bv173 (+), Rec1 (+)

CD19-K13	16318	CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-K13-opt		RAJI (+), NALM6 (+)
CD19-MC159L		CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-MC159		RAJI (+), NALM6 (+)
CD19	14035	CD8SP-huCD19-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-huCD19-mROO5-1-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC		RAJI (+), NALM6 (+)
CD19	16318	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-Xho- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-Bst-CD19-hu-mROO5-1-vH-Mlu- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-Xba-Bam-SynthK13		RAJI (+), NALM 6 (+)
CD19	14109	CD8SP-huCD19-USC3-vL-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-huCD19-USC3-vH- [hTCRa-T48C]	Raji (2,5+), NALM6 (2,5+), Daudi (2,5+)	
CD22	13284	CD8SP-CD22-h10F4v2-vL-Gly-Ser-Linker-CD22-h10F4v2-vH-MYC-CD8TM-BBZ-T2A-PA	RAJI (5+), NALM6 (3+)	
CD22	13293	CD8SP-CD22-h10F4v2-vL-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-CD22-h10F4v2-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	RAJI (6+), NALM6 (5+)	
CD22	13349	CD8SP-CD22-HA22-vL-[hTCRb-KAC-ECD-Bam-CD3zECDTMCP-opt] -F-P2A-SP-CD22-HA22-vH- [hTCRa-CSDVP-ECD-Kpn-CD3zECDTMCP-opt2]	RAJI (2+), NALM6 (+/-)	
CD22	13314	CD8SP-CD22-h10F4v2-vL-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-h10F4v2-vH- [hTCRa-T48C]	RAJI (4.5+), NALM6 (+/-)	
CD22	13320	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-CD22-HA22-vL-Gly-Ser-Linker-CD22-HA22-vH-Myc- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	RAJI (+)	
CD22	13321	CD8SP-V5- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-CD22-HA22-vL-Gly-Ser-Linker-CD22-HA22-vH-Myc4- [preTCRa-Del48] -F-F2A-PAC	RAJI (+/-)	
CD22		CD8SP-SC22-HA22-Mlu-CD8TM-BBZ		RAJI (+), NALM6 (+)

CD22	13346	CD8SP-CD22-HA22-vL-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-CD22-HA22-vH-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC		RAJI (+), NALM6 (+)
CD22	13369	CD8SP-CD22-HA22-vL-[hTCRa-T48C] -F-P2A-SP-CD22-HA22-vH-[hTCRa-S57C]		RAJI (+), Daudi (+)
CD22		CD22-h10F4v2-Mlu-CD8TM-BBZ		RAJI (+), Daudi (+)
CD22	13316	CD8SP-CD22-h10F4v2-vL-[hTCRa-T48C] -F-P2A-SP-CD22-h10F4v2-vH-[hTCRa-S57C]		RAJI (+), Daudi (+)
CD22	14215	CD8SP-hu-RFB4-vL-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-hu-RFB4-vH-[hTCRa-T48C]	Raji (1.5+), NALM6 (+), Daudi (2+)	Raji (+)
CD22	13343	CD8SP-CD22-INO-vL-Gly-Ser-Linker-CD22-INO-vH-Myc-CD8TM-BBz		Raji (+)
CD22	16319	CD8SP-CD22-INO-vL-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-INO-vH-[hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC	Raji (+), NALM6 (+), Daudi (+)	
CD22	16320	CD8SP-CD22-hu-HA22-2-vL-[hTCRa-T48C] -F-P2A-SP-CD22-hu-HA22-2-vH-[hTCRa-S57C] -F-F2A-Pac	Raji (2+), NALM6 (+), Daudi (2,5+)	
CD22	16321	CD8SP-CD22-Med-12C5-HL-vH-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-Med-12C5-HL-vL-[hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC	Raji (+), NALM6 (+/-), Daudi (1.5+)	
CD22	16322	CD8SP-huRFB4-vL-Xho-[hTCRβ-S57C] -F-P2A-SP-Bst-huRFB4-vH-Mlu-[hTCRα-T48C-opt] -F-F2A-Xba-PAC	RAJI (2+), NALM6 (+), Daudi (3+)	
CD22	16323	CD8SP-CD22-CELL7-vL-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-CELL7-vH-[hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC	RAJI (+/-)	
CD22	16324	CD8SP-CD22-HA22-vL-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-CD22-HA22-vH-[hTCRa-T48C] -F-F2A-PAC	RAJI (+), NALM6 (+/-), Daudi (1.5+)	
CLDN6	1526	CD8SP-CLDN6-USC2-LH4-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-CLDN6-USC2-LH4-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	HepG2 (3+), OVCAR3 (+)	
DLL3	1622	CD8SP-DLL3-AM14-HL-vH-Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	LAN5 (+), SKMEL 37 (+/-)	

Ee3	2506	CD8SP-Her3-USC1-HL4-vL- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP- Her3-USC1-HL4-vH- [hTCRb- KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	MCF7 (2+)	
MPL		CD8SP-MPL-161- (vL- vH) - Mlu-CD8TM-BBZ-ter-Sal- WPRE-G02		HEL (+)
MPL	16315	CD8SP-MPL-hu-161-2-BBz	HEL (+)	HEL (+)
MPL	13764	CD8SP-hu-161-2-vL- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-SP-hu-161-2- vH- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A- Xba-PAC		HEL (+)
MPL	13791	CD8SP-hu-161-2-vL- [hTCRb- S57C] -F-P2A-SP-hu-161-2-vH- [hTCRa-T48C]	HEL (3+)	HEL (+)
MPL		CD8SP-161-vL- [hTCRb-S57C] - F-P2A-IgHSP-Bst-161-vH- [hTCRa-T48C-opt] -		HEL (+)
MSLN	2749	CD8SP-MSLN-3-HL-AM-vH- Gly-Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM- BBz	SKOV3 (+)	
MSLN	2847	CD8SP-MSLN-237-HL-vH-Gly- Ser-Linker-vL-Myc-CD8TM-BBz	SKOV3 (+)	
MSLN	9444	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP- MSLN-hu22A10-vH- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-PAC	SKOV3 (+)	SKOV3 (+)
MSLN	9395	CD8SP-MSLN-7D9-v3-vL- [hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP- MSLN-7D9-v3-vH- [hTCRa- CSDVP] -F-F2A-PAC	SKOV3 (+)	SKOV3 (+)
MSLN	14321	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH- [hTCRb-S57C] -F-P2A-SP- MSLN-7D9-HL-vL- [hTCRa- T48C]	SKOV3 (+/-)	SKOV3 (+)
MSLN		CD8SP-MSLN-hu22A10-vL- Xho- [hTCRβ-KACIAH] -F-P2A- SP-Bst-MSLN-hu22A10-vH-Mlu- [hTCRα-CSDVP] -F-F2A-Xba- Bam-SynthK13	SKOV3 (+)	SKOV3 (+)
MSLN		CD8SP-MSLN-7D9-vH-Xho- [hTCRβ-KACIAH] -F-P2A-SP- Bst-MSLN-7D9-vL-Mlu- [hTCRα-CSDVP] -F-F2A-Xba- Bam-SynthK13	SKOV3 (+)	SKOV3 (+)
MSLN	14294	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH- [hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP- MSLN-7D9-HL-vL- [hTCRb- KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	SKOV3 (+/-)	SKOV3 (+)

MSLN	14241	CD8SP-MSLN-5-HL-vH-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN-5-HL-vL-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	SKOV3 (+)	SKOV3 (+)
MSLN		CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-Xho-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-IgHSP-Bst-MSLN-hu22A10-vH-Mlu-[hTCRb-KACIAH] -		SKOV3 (+)
MSLN	2847	MSLN-237-BBZ		SKOV3 (+)
MSLN	16312	CD8SP-MSLN-hu22A10-BBz	SKOV- 3 + / -	SKOV3 (+)
MSLN	16313	CD8SP-MSLN-7D9-HL-BBz	SKOV- 3 + / -	SKOV3 (+)
MSLN	16314	CD8SP-MSLN-5-HL-BBz	SKOV- 3+	SKOV3 (+)
MSLN	2849	CD8SP-MSLN-237-HL-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-MSLN-237-HL-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC		SKOV3 (+)
MSLN	14348	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-PG4SP-v2-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-PG4SP-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	SKOV- 3 + / -	
MSLN	14295	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH-PG4SP-v2-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-SP-MSLN-7D9-HL-vL-PG4SP-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	SKOV- 3+	
MSLN	14268	CD8SP-MSLN-5-HL-vH-[hTCRb-S57C] -F-P2A-SP-MSLN-5-HL-vL-[hTCRa-T48C]	SKOV- 3+	SKOV3 (+)
MSLN	14274	CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-CD8SP-MSLN-7D9-HL-vH-Gly-Ser-Linker-MSLN-7D9-HL-vL-Myc-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-PAC	SKOV- 3+	
SLC34A2	3584	CD8SP-huMX35-LH4-vL-[hTCRa-CSDVP] -F-F2A-SP-huMX35-LH4-vH-[hTCRb-KACIAH] -F-P2A-Xba-PAC	OVCAR3 (3+)	

[00669] Сравнительный анализ CAR CD19 с различными антигенсвязывающими доменами

Т-клетки инфицированы CAR, которые содержат разные антигенсвязывающие домены, но имеют схожий остов. Т-клетки, экспрессирующие CAR на каркасе CAR 2-го поколения (например, SEQ ID NO: 16317) и двухцепочечном каркасе SIR (например, SEQ ID NO: 14056 и 14109) и содержащие антигенсвязывающие домены (например, фрагменты vL и vH, vL-CDR1-3 и vH-CDR-1-3), полученные из huCD19-mROO5-1 (SEQ ID NO: 14406 и 14437) и huCD19-USC3 (SEQ ID NO: 14400 и 14431), соответственно, демонстрируют

превосходные результаты *in vitro* цитотоксичность и секреция цитокинов по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими соответствующий CAR, содержащий антигенсвязывающие домены (например, фрагменты vL и vH), полученные из hu-CD19-USC1-LH4 (SEQ ID NO: 4190 и 4264), CD19-9B7 (SEQ ID NO: 4151 и 4225) и hu-Bu-13 (SEQ ID NO: 9655 и 9686). Следовательно, антигенсвязывающие домены, полученные из hu-CD19-USC1-LH4, CD19-9B7 и hu-Bu-13, не были выбраны для конструирования CAR (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, TFP и т.).

[00670] Исследования *in vitro* и *in vivo* с использованием CD19 CAR-T-клеток

Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков для CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 16311, 16317 и 16318), нацеленные на CD19. Аминокислотные последовательности этих CAR представлены SEQ ID NO: 16335, 16341 и 16342 соответственно. CAR, представленный SEQ ID NO: 16311 представляет собой CAR второго поколения с антигенсвязывающим доменом, полученным из антитела FMC63, и содержит костимулирующий домен 41BB и домен активации CD3z. CAR, представленный SEQ ID NO: 16317, представляет собой CAR второго поколения с антигенсвязывающим доменом, полученным из низкоаффинного гуманизированного антитела против CD19, и содержит костимулирующий домен 41BB и домен активации CD3z. Напротив, CAR, представленный SEQ ID NO: 16318, представляет собой двухцепочечный SIR, содержащий антигенсвязывающий домен, полученный из гуманизированного низкоаффинного антитела к CD19. Эта конструкция SIR также выражала вспомогательный модуль, кодирующий оптимизированную по кодонам версию vFLIP-K13 (SEQ ID NO: 12734). Все конструкции CAR были клонированы в векторе pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 12639). Клетки CAR-T размножали *in vitro* в течение 21 дня в среде XVIVO, дополненной гранулами рекомбинантного IL2 и CD3/CD28. Окрашивание APC-конъюгированным белком L с последующей проточной цитометрией на 5-й день после заражения выявило сильную экспрессию конструкций CAR SEQ ID NO: 16311 и SEQ ID NO: 16317 на поверхности клеток, причем примерно 45-50% клеток показали окрашивание протеином L. Напротив, наблюдалась очень низкая экспрессия CAR на клеточной поверхности, представленная SEQ ID NO: 16318, при этом менее 2% клеток показывали поверхностное окрашивание протеином L. После 3 недель культивирования клетки RAJI и NALM, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивировали с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR при соотношении эффектор: мишень (Е: Т) 1: 1 в течение 48 часов. Супернатант собирали и использовали для измерения IFN γ с помощью ELISA. На фигуре 2А показано значительное увеличение продукции IFN γ , когда все клетки CAR-T совместно культивируются с клетками RAJI, которые экспрессируют высокий уровень CD19. На фигуре 2В показано, что CAR-T, экспрессирующий конструкцию SEQ ID NO: 16318, демонстрирует более высокую индукцию IFN γ по сравнению с CAR-T, экспрессирующим конструкцию SEQ ID NO: 16311, при совместном культивировании с клетками Nalm6, которые экспрессируют умеренные уровни CD19. По

существо аналогичные результаты были получены при повторении эксперимента для измерения продукции $\text{TNF}\alpha$. Чтобы проверить *in vivo* эффективность различных CAR-T-клеток, мышам NSG вводили через хвостовую вену $0,5 \times 10^6$ клеток RAJI, стабильно экспрессирующих люциферазу светлячка (RAJI-Luc), а через три дня инъецировали 4×10^6 Т-клеток, экспрессирующих CAR. конструкции (SEQ ID NO: 16311, 16317 и 16318). Животных визуализировали еженедельно с помощью биолуминесцентного изображения после инъекции D-люциферина. На Фигуре 3 показано, что наблюдался значительный рост опухоли у животных, которым не вводили Т-лимфоциты или контрольные Т-клетки, и все они умерли на 23-й день. Животные, которым давали Т-клетки, экспрессирующие SEQ ID NO: 16311 и 16317, первоначально вылечили болезнь, но показали рецидив заболевания на 28-й день. Напротив, животным вводили Т-клетки, экспрессирующие CAR с SEQ ID NO: 16318 оставался здоровым до 51 дня. Мышам вводили Т-клетки, экспрессирующие CAR с SEQ ID NO: 16318 имел улучшенную выживаемость по сравнению с мышами, которым не вводили Т-клетки, контрольными Т-клетками или Т-клетками, экспрессирующими SEQ ID NO: 16311. Мыши, которым вводили Т-клетки, экспрессирующие SEQ ID NO: 16317, имели промежуточную выживаемость.

[00671] Исследования *in vitro* и *in vivo* с CD19 CAR-T-клетками

Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков для CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 16311 и 14056), нацеленные на CD19. CAR, представленный SEQ ID NO: 16311, был описан. Напротив, CAR, представленный SEQ ID NO: 14056, представляет собой двухцепочечный SIR, содержащий антигенсвязывающий домен, полученный из гуманизированного антитела с низкой аффинностью. Аминокислотная последовательность этой конструкции представлена SEQ ID NO: 15800. Обе конструкции CAR были клонированы в векторе pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 12639). Последовательность нуклеиновой кислоты вектора pCCLc-MNDU3-WPRE, кодирующего CAR с SEQ ID NO: 14056, представлена SEQ ID NO: 12641. Клетки CAR-T размножались *in vitro*. Окрашивание APC-конъюгированным белком L с последующей проточной цитометрией на 6 день после инфицирования выявило сильную экспрессию конструкций CAR SEQ ID NO: 16311 на поверхности клеток, причем примерно 71,07% клеток показали окрашивание белком L. Напротив, меньшая экспрессия CAR на клеточной поверхности, представленная SEQ ID NO: 14056, наблюдалась с 22,04% клеток, показывающих поверхностное окрашивание протеином L. После примерно 1 недели размножения клетки RAJI и NALM, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивировали с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR при соотношении E: T 1: 1 в течение 48 часов. Супернатант собирали и использовали для измерения $\text{IFN}\gamma$, $\text{TNF}\alpha$ и IL2 с помощью ELISA. Т-клетки, экспрессирующие CAR следующего поколения (т.е. двухцепочечный SIR), представленные SEQ ID NO: 14056, показали устойчивую продукцию $\text{IFN}\gamma$, $\text{TNF}\alpha$ и IL2 при совместном культивировании с клетками RAJI, в то время как Т-клетки, экспрессирующие CAR FMC63-BBz (SEQ ID NO: 16311) показали

слабую индукцию этих цитокинов. Эксперимент повторяли через 4 недели размножения CAR-T-клеток в культуре в среде XVIVO в присутствии антител к IL2, CD3 и CD28. Было замечено, что Т-клетки, экспрессирующие CAR, представленный SEQ ID NO: 14056, продолжают демонстрировать устойчивую продукцию IFN γ , TNF α и IL2 при совместном культивировании с клетками RAJI, в то время как Т-клетки, экспрессирующие CAR FMC63-BBz (SEQ ID NO: 16311) показали очень низкую или незначительную индукцию этих цитокинов, что свидетельствует о функциональном истощении. Чтобы проверить *in vivo* эффективность различных CAR-T-клеток, мышам NSG вводили через хвостовую вену $0,5 \times 10^6$ клеток NALM6 (В-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз), стабильно экспрессирующих люцифразу светлячков (NALM6-Luc), и через три дня вводили 3×10^6 Т-клеток, экспрессирующих конструкции CAR (SEQ ID NO: 16311 и 14056), которые размножались *in vitro* в течение 2-3 недель. Животных визуализировали еженедельно с помощью биолюминесцентного изображения после инъекции D-люциферина. На фигуре 4 показано, что наблюдался значительный рост опухоли у животных, которым не вводили Т-клетки или контрольные Т-клетки, и все они умерли к 29 дню. Животные, которым вводили Т-клетки, экспрессирующие SEQ ID NO: 16311, первоначально вылечили болезнь, но показали рецидив заболевания на 29 день. Напротив, животные, которым вводили Т-клетки, экспрессирующие CAR с SEQ ID NO: 14056, оставались здоровыми до 36 дня. Мыши, которым вводили Т-клетки, экспрессирующие CAR с SEQ ID NO: 14056, имели улучшенную выживаемость по сравнению с мышами, которым не вводили Т-клетки, контрольные Т-клетки. или Т-клетки, экспрессирующие CAR, представленные SEQ ID NO: 16311. По существу аналогичные результаты получают, когда Т-клетки, экспрессирующие SIR (SEQ ID NO: 16330), вводят мышам NSG, ксенотрансплантированным клетками Nalm6.

[00672] Сравнение маскировки антигена с помощью CAR, SIR и TFP, нацеленных на CD19

Случайное введение обычного CD19 CAR 2-го поколения в одну В-клетку недавно было показано, что приводит к рецидиву заболевания из-за маскирования CD19, экспрессируемого на лейкозных клетках, полипептидом CAR, экспрессируемым в лейкозных клетках (Ruella M et al, Nat Med.2018 Октябрь; 24 (10): 1499-1503). Это препятствовало тому, чтобы клетки CAR-T распознавали и убивали лейкозные клетки, экспрессирующие CAR, что приводило к клональной пролиферации, рецидиву заболевания и смерти пациента. Чтобы проверить, подвержены ли CAR следующего поколения этой проблеме, лентивирусы, кодирующие CAR второго поколения (SEQ ID NO: 16311, 16317), SIR (SEQ ID NO: 14035, 14056, 14065, 14109 и 16330) и TFP (SEQ ID NO: 16328 и 14098) стабильно экспрессируются в CD19-экспрессирующих клетках RAJI и Nalm6. Затем экспрессирующие CAR клетки окрашивают PE-конъюгированным антителом к CD19 (например, FMC63-PE). Наблюдается, что экспрессия CAR второго поколения (SEQ ID NO: 16311, 16317) и TFP (SEQ ID NO: 16328 и 14098) приводит к маскированию CD19 на клетках RAJI и Nalm6, что обнаруживается по уменьшению

окрашивания клеточной поверхности на CD19 как определено связыванием с антителом CD19-PE и проточной цитометрией. Напротив, экспрессия SIR (SEQ ID NO: 14035, 14056, 14065, 14109 и 16330) не оказывает значительного влияния на экспрессию CD19 в клетках RAJI и Nalm6. Кроме того, клетки RAJI, экспрессирующие CAR второго поколения (SEQ ID NO: 16311, 16317) и TFP (SEQ ID NO: 16328 и 14098), демонстрируют пониженное уничтожение Т-клетками, экспрессирующими соответствующие CAR и TFP, в то время как клетки RAJI, экспрессирующие SIR (SEQ ID NO: 14035, 14056, 14065, 14109 и 16330) сохраняют свою чувствительность к уничтожению Т-клетками, экспрессирующими соответствующий SIR.

[00673] Сравнение CAR с использованием модели синдрома высвобождения цитокинов (CRS)

Способность различных конструкций CD19 CAR индуцировать CRS была протестирована с использованием недавно описанной модели мышей (Giavridis T. et al, Nature Medicine, 2018). Вкратце, мышам SCID-Bige вводили внутривенно (внутрибрюшинно) 3 миллиона клеток Raji-pLenti-Luc в день 1. 30 миллионов CAR-Ts, экспрессирующих CAR (SEQ ID NO: 16315 и 16330), вводили на 21 день (внутрибрюшинно). Подобно опубликованному исследованию (Giavridis T. et al, Nature Medicine), одна треть животных, получавших CAR 2-го поколения (SEQ ID NO: 16315), погибла после инъекции CAR-T-клеток. Ни одно из животных, получавших SIR (SEQ ID NO: 16330), не погибло. По существу, аналогичные результаты получают, когда эксперимент повторяют с использованием Т-клеток, экспрессирующих SIR (SEQ ID NO: 14056).

[00674] Сравнительный анализ MPL CAR с различными антигенсвязывающими доменами

Т-клетки инфицированы CAR, которые содержат разные антигенсвязывающие домены, но имеют схожий остов. Т-клетки, экспрессирующие MPL CAR на различных остовах CAR (например, SEQ ID NO: 16315, 13761-13770, 13780-13794) и содержащие антигенсвязывающие домены (например, фрагменты vL и vH, vL-CDR1-3 и vH-CDR -1-3), полученные из hu-161-2 (SEQ ID NO: 14409 и 14440) и hu-161-3 (SEQ ID NO: 14402 и 14433), соответственно, демонстрируют лучшую цитотоксичность *in vitro* и секрецию цитокинов по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими соответствующий CAR, содержащий антигенсвязывающие домены (например, vL и vH фрагменты), происходящие из MPL-178, MPL-12E10 и MPL-AB317, которые описаны в WO2019067805. Следовательно, антигенсвязывающие домены, полученные из MPL-178, MPL-12E10 и MPL-AB317, не были выбраны для создания CAR (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, TFP и т. д.), нацеленных на MPL. Вместо этого антигенсвязывающие домены, полученные из hu-161-2 (SEQ ID NO: 14409 и 14440) и hu-161-3 (SEQ ID NO: 14402 и 14433), и vL и vH, содержащие их соответствующие области CDR, были отобраны для построения CAR (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, TFP и т. д.), нацеленных на MPL. CAR, нацеленных на MPL (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, TFP и

т. д.). CAR с SEQ ID NO: 13791 и 13793 сравниваются, и показано, что CAR с SEQ ID NO: 13791 проявляет лучшую цитотоксичность *in vitro* и продукцию цитокинов по сравнению с CAR с SEQ ID NO: 13793. Было обнаружено, что CAR с SEQ ID NO: 13791 превосходят соответствующие CAR на той же основной цепи, но содержат антигенсвязывающий домен, полученный из мышинового MPL-161, как описано в WO2019067805.

[00675] Исследования *in vitro* и *in vivo* с MPL CAR-T-клетками

T-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 16315 и 13791), нацеленные на человеческий MPL (рецептор тромбопоэтина). CAR (CD8SP-MPL-hu-161-2-BBz), представленный SEQ ID NO: 16315 представляет собой CAR второго поколения с антигенсвязывающим доменом, полученным из гуманизированного антитела MPL, и содержит костимулирующий домен 41BB и домен активации CD3z. Напротив, CAR, представленный SEQ ID NO: 13791, представляет собой двухцепочечный SIR, содержащий антигенсвязывающий домен, полученный из гуманизированного антитела MPL. Обе конструкции CAR были клонированы в векторе pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 12639). CAR-T-клетки размножались *in vitro* на срок до 2-4 недель. Клетки HEL.92.1.7, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивировали с T-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении E: T 1: 1 в течение 48 часов. Гибель клеток измеряли с помощью анализа Matador Assay. T-клетки, экспрессирующие CAR следующего поколения (т.е. двухцепочечный SIR), представленные SEQ ID NO: 13791, продемонстрировали устойчивую индукцию гибели клеток-мишеней и продукции цитокинов, в то время как T-клетки, экспрессирующие CAR MPL-hu-161-2-BBz (SEQ ID NO: 16315) показали слабую индукцию гибели клеток-мишеней и продукции цитокинов. Чтобы проверить *in vivo* эффективность различных CAR-T-клеток, мышам NSG вводили через хвостовую вену $0,5 \times 10^6$ клеток HEL.92.1.7 (острый миелоидный лейкоз), стабильно экспрессирующих люцифразу светлячков (HEL-Luc), и через три дня вводили с 3×10^6 T-клеток, экспрессирующих конструкции CAR (SEQ ID NO: 16315 и 13791), которые размножались *in vitro* в течение 2-3 недель. Мыши, получившие T-клетки, экспрессирующие CAR с SEQ ID NO: 13791 улучшил выживаемость по сравнению с мышами, которые не получали T-клетки, или мышами, которые получали контрольные T-клетки или T-клетки, экспрессирующие SEQ ID NO: 16315.

[00676] Сравнение маскировки антигена с помощью CAR, SIR и TFP, нацеленных на MPL

Клетки HEL.92.1.7 инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 16315, 13780 и 13791), нацеленные на человеческий MPL. Влияние экспрессии CAR на маскировку MPL определяют с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания антителом MPL (1.6.1) и анализа FACS. Альтернативно, экспрессию несвязанного MPL определяют путем связывания с слитым белком 161-scFv-Nluc (SEQ ID NO: 2245, как описано в WO2017173403, которая включена

в настоящий документ в качестве ссылки). Слитый белок 161-scFv-Nluc содержит антигенсвязывающий домен, полученный из антитела-мишени MPL (1.6.1), слитого с Nluc. Было обнаружено, что экспрессия CAR с SEQ ID NO: 16315 и 13780 в клетках HEL.92.1.7 приводит к маскировке антигена, тогда как экспрессия CAR с SEQ ID NO: 13791 не приводит к значительной маскировке MPL.

[00677] Сравнительный анализ BCMA CAR с разными антигенсвязывающими доменами

Т-клетки инфицированы CAR, которые содержат разные антигенсвязывающие домены, но имеют схожий остов. Т-клетки, экспрессирующие BCMA CAR на разных остовах CAR (например, SEQ ID NO: 12913, 12916-12946) и содержащие антигенсвязывающие домены (например, фрагменты vL и vH, vL-CDR1-3 и vH-CDR1-3), полученный из BCMA-huC13-F12 (SEQ ID NO: 14413 и 14444), BCMA-huC12A3-L3H3 (SEQ ID NO: 14414 и 14445), BCMA-J6M0 (SEQ ID NO: 14415 и 14446), BCMA-huJ22-10 (SEQ ID NO: 14398 и 14229) и BCMA-hu72 (SEQ ID NO: 14401 14432) соответственно, демонстрируют превосходную цитотоксичность и секрецию цитокинов *in vitro*. Следовательно, антигенсвязывающие домены, полученные из указанных выше антигенсвязывающих доменов, и vL и vH, содержащие их соответствующие области CDR, были выбраны для CAR, нацеленных на BCMA (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, TFR и т. Д.).

[00678] Исследования *in vitro* и *in vivo* с использованием CAR-Т-клеток BCMA

Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO (ДНК): 16316 и 12890, 12943), нацеленные на человеческий BCMA. Соответствующие аминокислотные последовательности этих конструкций представлены SEQ ID NO; 16340, 14634 и 14687). CAR, представленный SEQ ID NO; 16316 представляет собой CAR второго поколения с антигенсвязывающим доменом, полученным из гуманизированного антитела MPL, и содержит костимулирующий домен 41BB и домен активации CD3z. Напротив, CAR, представленные SEQ ID NO: 12890 и 12943, представляют собой двухцепочечные SIR. Обе конструкции CAR были клонированы в векторе pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 12639). Полная последовательность нуклеиновой кислоты лентивирусного вектора, кодирующего CAR SEQ ID NO: 12890 и 12943, представлена SEQ ID NO: 14378-14385 соответственно. CAR-Т-клетки размножались *in vitro* на срок до 2-4 недель. Клетки L363, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивировали с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 1: 1 в течение 48 часов. Гибель клеток измеряли с помощью анализа Matador Assay. Все клетки CAR-Т показали умеренную индукцию гибели клеток-мишеней и выработку цитокинов (IFN γ и TNF α). Чтобы проверить *in vivo* эффективность различных CAR-Т-клеток, мышам NSG вводили через хвостовую вену $0,5 \times 10^6$ L363 (лейкоз плазматических клеток), стабильно экспрессирующую люцифразу светлячка (L363-Luc), а через два дня вводили 2×10^6 Т

клетки, экспрессирующие конструкции CAR (SEQ ID NO: 16316 и 12890, 12943), которые размножались *in vitro* в течение 2-3 недель. Мыши, получавшие Т-клетки, экспрессирующие CAR с SEQ ID NO: 16316 и 12890, 12943, имели улучшенную выживаемость по сравнению с мышами, получавшими контрольные Т-клетки. По существу аналогичные результаты получены с использованием Т-клеток, экспрессирующих CAR, представленные SEQ ID NO: 13049, 12996 и 12837.

[00679] Способность различных конструкций CAR маскировать антиген BCMA тестируют путем стабильной экспрессии конструкций CAR с SEQ ID NO (ДНК): 16316 и 12890, 12943 в линиях клеток L363 и U266. Наблюдается, что стабильная экспрессия CAR 16316 приводит к маскированию антигена BCMA, в то время как при стабильной экспрессии конструкций с SEQ ID NO: 12890, 12943 не наблюдается значительной маскировки антигена. Аналогично, CAR с SEQ ID NO: 13049, 12996 и 12837 не приводят к маскированию антигена при экспрессии в клетках L363 или U266, экспрессирующих BCMA.

[00680] Сравнительный анализ CAR мезотелина (MSLN) с различными антигенсвязывающими доменами

Т-клетки инфицированы CAR, которые содержат разные антигенсвязывающие домены, но имеют схожий остов. Т-клетки, экспрессирующие MSLN CAR на различных остовах CAR (например, SEQ ID NO: 14291-14323) и содержащие антигенсвязывающие домены (например, фрагменты vL и vH, vL-CDR1-3 и vH-CDR-1-3), полученные из MSLN-3-HL-AM (SEQ ID NO: 4136 и 4210), MSLN-5 (SEQ ID NO: 14412 и 14443), MSLN-7D9-HL (SEQ ID NO: 14411 и 14442) и MSLN-hu22A10 (SEQ ID NO: 14410 и 14441) соответственно, демонстрируют лучшую цитотоксичность *in vitro* и секрецию цитокинов по сравнению с антигенсвязывающими domains, полученными из MSLN-HuAM15 и MSLN76923-HL. Следовательно, антигенсвязывающие домены, полученные из MSLN-3-HL-AM (SEQ ID NO: 4136 и 4210), MSLN-5 (SEQ ID NO: 14412 и 14443), MSLN-7D9-HL (SEQ ID NO: 14411 и 14442), и MSLN-hu22A10 (SEQ ID NO: 14410 и 14441) и vL и vH, содержащие их соответствующие области CDR, были выбраны для CAR, нацеленных на MSLN (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, TFP и т. д.).

[00681] Сравнительный анализ CAR мезотелина (MSLN) с разными антигенсвязывающими доменами и скелетами

[00682] Т-клетки, экспрессирующие MSLN CAR, содержащие разные антигенсвязывающие домены и на разных остовах CAR (SEQ ID NO: 16312-16314; 16361-16363), были созданы с использованием переноса генов с использованием вектора pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 12639). CAR-экспрессирующие Т-клетки тестировали против клеток SKOV3 на цитотоксичность с использованием анализа Matador и на продукцию цитокинов. Все клетки CAR-T проявляли цитотоксичность от легкой до умеренной и разные уровни продукции цитокинов при совместном культивировании с клетками SKOV3. Затем клетки CAR-T тестировали на модели ксенотрансплантата SKOV3 на мышах NSG. Для этой цели 1×10^6 клеток SKOV3-Luc вводили подкожно, а через неделю

- внутривенную инъекцию 3×10^6 Т-клеток, экспрессирующих CAR. Рост опухоли контролировали с помощью биолюминесцентного изображения и измерения объема опухоли. От умеренного до умеренного ингибирования роста опухоли наблюдали у мышей, которым вводили Т-клетки, экспрессирующие CAR с SEQ ID NO: 16312-16314 и 16361-16362.

[00683] Затем были созданы Т-клетки, экспрессирующие MSLN CAR, содержащие разные антигенсвязывающие домены и на разных остовов CAR (SEQ ID NO: 16313-16314; 16331-16334; 14268-14269; 14321 и 14374) с использованием переноса гена с участием pCCLc Вектор -MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 12639). Аминокислотная последовательность этих конструкций CAR представлена SEQ ID NO: 16337-16338; 16354-16357; 16012-16013, 16065 и 16118 соответственно. Полная последовательность нуклеиновой кислоты лентивирусного вектора, кодирующего CAR SEQ ID NO: 14374, 14321 и 14268, представлена SEQ ID NO: 14381-14383 соответственно. CAR-экспрессирующие Т-клетки тестировали против клеток SKOV3 на цитотоксичность с использованием анализа Matador и на продукцию цитокинов. Все клетки CAR-Т показали умеренную цитотоксичность и различные уровни продукции цитокинов после 72-часового совместного культивирования с клетками SKOV3 при соотношении Е: Т 1: 1. Т-клетки, экспрессирующие CAR, показали высокую исходную продукцию IFN γ и TNF α , которая отсутствовала в Т-клетках, экспрессирующих CAR 16331-16334; 14268-14269; 14321 и 14374. Затем клетки CAR-Т тестировали на модели ксенотрансплантата SKOV3 на мышах NSG. Для этой цели 1×10^6 клеток SKOV3-Luc вводили подкожно, а через неделю - внутривенную инъекцию 3×10^6 Т-клеток, экспрессирующих CAR. Рост опухоли контролировали с помощью биолюминесцентного изображения и измерения объема опухоли. В то время как мышам, которым вводили Т-клетки, экспрессирующие CAR с SEQ ID NO: 16313-16314, не удалось контролировать опухоль, мыши, которым вводили CAR с SEQ ID NO: 16331-16334; 14268-14269; 14321 и 14374 полностью уничтожили опухоль после 18-го дня, и до 67-го дня у этих животных не наблюдали опухоли, поддающейся измерению. Результаты были подтверждены с использованием биолюминесцентной визуализации. Это привело к значительному увеличению выживаемости у животных, которым вводили CAR с SEQ ID NO: 16331-16334; 14268-14269; 14321 и 14374.

[00684] Сравнительный анализ CAR CD22 с различными антигенсвязывающими доменами

Т-клетки инфицированы CAR, которые содержат разные антигенсвязывающие домены, но имеют схожий остовов. Т-клетки, экспрессирующие CAR CD22 на каркасе CAR 2-го поколения (например, SEQ ID NO: 13443, 13390, 13284 и 14185) и двухцепочечном остовов SIR (например, SEQ ID NO: 13473, 13420, 13314 и 14215) и содержащие антиген связывающие домены (например, фрагменты vL и vH, vL-CDR1-3 и vH-CDR-1-3), происходящие из CD22-INO (SEQ ID NO: 14387 и 14418), CD22-hu-NA22-2 (SEQ ID NO : 14399 и 14430) CD22-h10F4v2 (SEQ ID NO: 14407 и 14438) и CD22-hu-RFB4 (SEQ ID NO: 14396 и 14427), соответственно, демонстрируют лучшую цитотоксичность и

секрецию цитокинов *in vitro* по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими соответствующие CAR, содержащие антигенсвязывающие домены (например, vL и vH фрагменты), полученные из hu-NA22-1 (SEQ ID NO: 4123 и 4197) и CD22-CELL7 (SEQ ID NO: 14390 и 14421). Следовательно, антигенсвязывающие домены, полученные из hu-NA22-1 и CD22-CELL7, не были выбраны для создания CAR, нацеленных на CD22 (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, TFP и т. Д.). Вместо этого антигенсвязывающие домены образуют CD22-INO (SEQ ID NO: 14387 и 14418), CD22-hu-NA22-2 (SEQ ID NO: 14399 и 14430), CD22-h10F4v2 (SEQ ID NO: 14407 и 14438) и CD22-hu-RFB4 (SEQ ID NO: 14396 и 14427) и vL и vH, содержащие их соответствующие области CDR, были отобраны для CAR, нацеленных на CD22.

[00685] **Т-клетки, экспрессирующие CAR фолатного рецептора 1 (FR1 или FOLR1), индуцируют цитотоксичность в FR1-экспрессирующих клетках SKOV3.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 2062-2102; 2111-2140), нацеленные на FR1. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки SKOV3, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими CAR при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. В естественных условиях активность CARs продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата в NSG мышей.

[00686] **Т-клетки, экспрессирующие BAFF-R CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках Jeko-1 и REC-1, экспрессирующих BAFF-R.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими различные конструкции CAR (например, SEQ ID NO: 13922-13953; 13848-13858, 13869-13900, 13954-13964; 13975-14006), нацеленные на BAFF-R. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки Jeko-1 и REC-1, стабильно экспрессирующие hGLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, в соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Продукция IFN γ и TNF α определяется с помощью ELISA. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата Jeko-1 на мышцах NSG. Показано, что Т-клетки, экспрессирующие CAR (например, SEQ ID NO: 13897, 13950, 14003 и т.д.), активируют передачу сигналов Т-клеток, когда они встречаются с BAFF-R-положительными клетками.

[00687] **Т-клетки, экспрессирующие CAR мезотелина (MSLN), индуцируют цитотоксичность в клетках SKOV3, экспрессирующих MSLN.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими различные конструкции CAR (SEQ ID

NO: 2748-2777; 2797-2826; 2846-2875; 2895-2924; 2944-2973; 9386-9415; 9435- 9464), нацеленный на MSLN. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки SKOV3, стабильно экспрессирующие hGLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00688] Т-клетки, экспрессирующие Her2 CAR, индуцируют цитотоксичность в Her2-экспрессирующих клетках MCF7. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 2346, 2356-2385; 2395, 2405-2434; 2444, 2454-2483; 9092-9121; 9141-9170). Ее 2. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки MCF7, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00689] **Т-клетки, экспрессирующие EGFRviii CAR, индуцируют цитотоксичность в экспрессирующих EGFRviii клетках U87MG.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 1660, 1670-1699, 1709, 1719-1748, 1758, 1768-1797, 1807, 1817-1846), нацеленные на EGFRviii. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки U87MG-EGFRviii, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, в соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00690] **Т-клетки, экспрессирующие EMR2 CAR, вызывают цитотоксичность в экспрессирующих EMR2 клетках.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 1856, 1866-1895, 1905, 1915-1944, 1954, 1964-1993), нацеленные на EMR2. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки Molm13, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00691] **Т-клетки, экспрессирующие DLL3 CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих DLL3.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 1553-1650), нацеленные на DLL3. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки SK-MEL-37, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00692] **Т-клетки, экспрессирующие CD19 CAR, индуцируют цитотоксичность в CD19-экспрессирующих клетках.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков для CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 769-817, 720-768, 867-915, 965-1013, 818-866, 8632-8680), нацеленные на CD19. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки RAJI или NALM6, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 4 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00693] **Т-клетки, экспрессирующие CD20 CAR, индуцируют цитотоксичность в экспрессирующих CD20 клетках.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков для CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 1063-1111, 1014-1062), нацеленные на CD20. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки RAJI или NALM6, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 4 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00694] **Т-клетки, экспрессирующие BCMA CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих BCMA.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 377-572, 8093-8484), нацеленные на BCMA. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки U266 и L363, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с

использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00695] Т-клетки, экспрессирующие FLT3 CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих FLT3. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 8926-9023), нацеленные на FLT3. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. RS4; 11 и MV4; 11 клеток, стабильно экспрессирующих GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00696] Т-клетки, экспрессирующие CLL1 CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих CLL1. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 8779-8876), нацеленные на CLL1. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки RAJI и U937, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00697] Т-клетки, экспрессирующие BST1 CAR, индуцируют цитотоксичность в BST1-экспрессирующих клетках. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 8485-8631), нацеленные на BST1. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки KG1, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00698] Т-клетки, экспрессирующие IL1RAP CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих IL1RAP. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 9171-9317), нацеленные на IL1RAP. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки THP-1, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с

использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00699] Т-клетки, экспрессирующие grA33 CAR, вызывают цитотоксичность в клетках, экспрессирующих grA33. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 9024-9072), нацеленные на grA33. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки Molm-13, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00700] Т-клетки, экспрессирующие GPC3 CAR, вызывают цитотоксичность в GPC3-экспрессирующих клетках. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 9024-9072), нацеленные на GPC3. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки HepG2, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00701] Т-клетки, экспрессирующие CLDN6 CAR, вызывают цитотоксичность в клетках, экспрессирующих CLDN6. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков для CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 1455-1552), нацеленные на CLDN6. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки HepG2, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00702] Т-клетки, экспрессирующие CAR UPK1B, вызывают цитотоксичность в клетках, экспрессирующих UPK1B. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 1455-1552), нацеленные на UPK1B. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки OVCAR-3, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа

Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR in vivo продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00703] **Т-клетки, экспрессирующие CAR BMPR1B, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих BMPR1B.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 573-670), нацеленные на BMPR1B. CAR-Т-клетки размножаются in vitro в течение 10-14 дней. Клетки LNCaP и COV434, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR in vivo продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00704] **Т-клетки, экспрессирующие WISP1 CAR, индуцируют цитотоксичность в WISP1-экспрессирующих клетках.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3856-3953), нацеленные на WISP1. CAR-Т-клетки размножаются in vitro в течение 10-14 дней. Клетки MDA-MB-453, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR in vivo продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00705] **Т-клетки, экспрессирующие CD133 CAR, вызывают цитотоксичность в экспрессирующих CD133 клетках.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков для CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 11312-11458), нацеленные на CD133. CAR-Т-клетки размножаются in vitro в течение 10-14 дней. Reh и RS4; 11 клеток, стабильно экспрессирующих GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, в соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR in vivo продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00706] **Т-клетки, экспрессирующие CAR рецептора пролактина (PRLR), индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих PRLR.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3121-3218), нацеленные на PRLR. CAR-Т-клетки размножаются in vitro в течение 10-14 дней. Клетки MCF7, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов.

Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00707] Т-клетки, экспрессирующие CAR IL13Ra2, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих IL13Ra2. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 14132-14165), нацеленные на IL13Ra2. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки U87MG, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00708] Т-клетки, экспрессирующие CAR нектин-4, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих нектин-4. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3072-3120, 9465-9513), нацеленные на нектин-4. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки MCF7, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00709] Т-клетки, экспрессирующие PSMA CAR, вызывают цитотоксичность в клетках, экспрессирующих PSMA. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3219-3365), нацеленные на PSMA. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки PC3, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00710] Т-клетки, экспрессирующие TSHR (рецептор тиреотропного гормона), вызывают цитотоксичность в клетках, экспрессирующих TSHR. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3611-3659), нацеленные на TSHR. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней.

ТТ-клетки, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00711] Т-клетки, экспрессирующие CAR CDH19, вызывают цитотоксичность в клетках, экспрессирующих CDH19. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков для CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 1308-1405), нацеленные на CDH19. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки MEL-624, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00712] Т-клетки, экспрессирующие VISTA CAR, вызывают цитотоксичность в VISTA-экспрессирующих клетках. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3758-3855), нацеленные на VISTA. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки MOLM-13, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 4 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00713] Т-клетки, экспрессирующие ROR1 CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих ROR1. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 9514-9562), нацеленные на ROR1. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки JEKO-1, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 4 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00714] Т-клетки, экспрессирующие Liv1 CAR, индуцируют цитотоксичность в Liv1-экспрессирующих клетках. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 9514-9562), нацеленные на Liv1. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки MCF7, стабильно

экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 4 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00715] Т-клетки, экспрессирующие CAR интегрин B7, вызывают цитотоксичность в клетках, экспрессирующих интегрин B7. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 2533-2581), нацеленные на интегрин B7. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки U266, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 4 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00716] Т-клетки, экспрессирующие CAR SLC34A2, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих SLC34A2. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3562-3610), нацеленные на SLC34A2. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки OVCAR-3 и OVCAR-4, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00717] Т-клетки, экспрессирующие LY6E CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих LY6E. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 2582-2630), нацеленные на LY6E. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки Molm13, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 4 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00718] Т-клетки, экспрессирующие LYPD1 CAR, индуцируют цитотоксичность в LYPD1-экспрессирующих клетках. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 2631-2679),

нацеленные на LYPD1. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки OVCAR-3, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00719] **Т-клетки, экспрессирующие STEAP1 CAR, индуцируют цитотоксичность в экспрессирующих STEAP1 клетках.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3513-3561, 9563-9611), нацеленные на STEAP1. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки PC3 и LNCaP, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00720] **Т-клетки, экспрессирующие Muc5Ac CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих Muc5Ac.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 2974-3022), нацеленные на Muc5Ac. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки Capan-1 (рак поджелудочной железы) и NCI-H1437, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00721] **Т-клетки, экспрессирующие Muc17 CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих Muc17.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3023-3071), нацеленные на Muc17. CAR-T-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки SW1463 и SW403, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-T-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00722] **Т-клетки, экспрессирующие RNF43 CAR, индуцируют**

цитотоксичность в клетках, экспрессирующих RNF43. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3366-3463), нацеленные на RNF43. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки Lovo, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00723] **Т-клетки, экспрессирующие Robo4 CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих Robo4.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 3464-3512), нацеленные на Robo4. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки ME-1, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00724] **Т-клетки, экспрессирующие gPNMB CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих gPNMB.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 2239-2287), нацеленные на gPNMB. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки U87MG, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00725] **Т-клетки, экспрессирующие FCRH5 CAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих FCRH5.** Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CAR (SEQ ID NO: 1994-2042), нацеленные на FCRH5. CAR-Т-клетки размножаются *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки REC-1, стабильно экспрессирующие GLuc, совместно культивируют с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е: Т 10: 1 в течение 48 часов. Индукцию лизиса клеток-мишеней, опосредованную CAR-Т-клетками, анализируют с использованием анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность CAR *in vivo* продемонстрирована с использованием модели ксенотрансплантата на мышах NSG.

[00726] Эффективность CAR против CD19 *in vivo*. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с использованием магнитных шариков CD3, инфицированы лентивирусами, экспрессирующими конструкции CD19 CAR (например, SEQ ID NO: 8633-8680). Мышей NSG (лаборатория Джексона) сублетально облучали в дозе 175 сГр. Приблизительно через 24 часа после облучения (день 2) мышам через хвостовую вену вводят $2,5 \times 10^4$ клеток RAJI. На 3 день мышам ($n=5$ для каждой группы) прививают 5 миллионов клеток CD19 CAR-T. Контрольные мыши ($n=5$) не получают Т-клетки или неинфицированные Т-клетки. Мышам вводят человеческий IL2 (400 МЕ внутривенно) через день до тех пор, пока все мыши в контрольной группе не умрут. Мыши, обработанные клетками CD19 CAR-T, выживают дольше, чем контрольные мыши. По сути, аналогичный подход используется для тестирования эффективности других CAR Т-клеток *in vivo*, как описано в данном документе, с использованием ксенотрансплантатов клеточных линий, экспрессирующих их антигены-мишени, как показано в таблице А, или с использованием информации, доступной в литературе.

[00727] Использование CAR-T-клеток для адоптивной клеточной терапии. CAR-T-клетки, как описано в данном документе, можно использовать для адоптивной клеточной терапии. Например, пациенты с рецидивирующим острым лимфолейкозом (ОЛЛ), хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) или В-клеточными лимфомами высокого риска и среднего риска могут получать иммунотерапию с адоптивно перенесенными клетками CAR-T, нацеленными на CD19. Продукт лейкофереза, собранный у каждого пациента, выделяют на CD3-положительные Т-лимфоциты с помощью системы CliniMACS Prodigy® от Miltenyi Biotec и в соответствии с рекомендациями производителя. Клетки трансдуцируются вирусом CD19-CAR клинической степени (например, SEQ ID NO: 14056, SEQ ID NO: 14109, SEQ ID NO: 16330; SEQ ID NO: 903, SEQ ID NO: 791) с последующим отбором и размножением CAR-Т - клетки в закрытой системе. В это время после лейкофереза участники исследования начинают получать лимфодеплетивную химиотерапию ($30 \text{ мг/м}^2/\text{сутки}$ флударабина плюс $500 \text{ мг/м}^2/\text{сутки}$ циклофосфида $\times 3$ дня). Через день после завершения схемы лимфодеплетивной терапии ранее помещенный на хранение CAR -Т-клеточный продукт транспортируют, размораживают и инфузируют у постели пациента. Участник исследования получает SIR-трансдуцированные лимфоциты путем внутривенной инфузии с последующим высокодозным ($720\,000 \text{ МЕ/кг}$) IL-2 (альдеслейкин; Prometheus, Сан-Диего, Калифорния) каждые 8 часов с учетом переносимости. Доза CAR -Т-продукта варьирует от 1×10^4 CAR +ve CD3 клеток/кг до 5×10^9 CAR +ve CD3 клеток/кг согласно протоколу исследования. CAR -Т-продукт может вводиться в виде единственной инфузии или быть разделен на несколько инфузий. Участники исследования могут получать предварительное лечение 15 мг/кг ацетаминофена п/о (максимум 650 мг) и дифенгидрамин в дозе $0,5\text{-}1 \text{ мг/кг}$ в/б (максимальная доза 50 мг) по меньшей мере за 30 минут до инфузии Т-клеток. Участник исследования может необязательно получать ежедневные инъекции IL-2 человека. Затем могут быть проведены клинические и лабораторные наблюдательные корреляционные

исследования по усмотрению лечащего врача, которые могут включать исследования присутствия CD19-экспрессирующих клеток ОЛЛ/лимфомы и/или адоптивно перенесенных Т-клеток методом количественной ОТ-ПЦР; ФДГ-ПЭТ и/или КТ-сканирования; исследование костного мозга для оценки специфической для заболевания патологии; биопсию лимфатических узлов; и/или долгосрочные наблюдения согласно рекомендациям Консультативного комитета FDA по модификаторам биологического ответа, которые относятся к исследованиям переноса генов. По существу аналогичный способ может быть использован для лечения других заболеваний с применением аутологичных иммунных клеток (например, Т-клеток), которые были сконструированы для экспрессии CAR согласно настоящему описанию, где CAR нацелен на антиген или антигены, экспрессируемые на вызывающих заболевание или ассоциированных с заболеванием клетках.

[00728] **U с из CAR-T - клеток, ориентированных на множественные антигены для приемной клеточной терапии.** Пациенты со многими видами рака участвуют в клинических испытаниях фазы I, одобренных IRB, по иммунотерапии с адоптивно перенесенными CAR-T-клетками, нацеленными на различные вызывающие или связанные с заболеванием антигены. CAR для разных заболеваний выбирают на основе известной экспрессии целевого антигена на вызывающих заболевание или ассоциированных с заболеванием клетках. Если это возможно, экспрессию мишени CAR на вызывающих заболевание или ассоциированных с заболеванием клетках подтверждают путем связывания со слитым белком ABD-GGS-NLuc, в котором антигенсвязывающий домен CAR слит с несекретируемой формой белка NLuc с помощью гибкого линкера. Как вариант, используют иммуногистохимическое исследование или проточную цитометрию с применением коммерчески доступных антител для подтверждения экспрессии мишени CAR на вызывающих заболевание или ассоциированных с заболеванием клетках. Т-клетки берут у субъекта с применением лейкофереза, трансдуцируют подходящим кодирующим CAR лентивирусным вектором и размножают *ex vivo* с применением гранул с CD3/CD28 в закрытой системе. После проведения тестирования для контроля качества итоговых клеточных продуктов (в том числе тестов на стерильность и опухолеспецифическую цитотоксичность) их криоконсервируют. В это время участники исследования начинают получать лимфодеплетивную химиотерапию (30 мг/м²/сутки флударабина плюс 500 мг/м²/сутки циклофосфида × 3 дня). Через день после завершения схемы лимфодеплетивной терапии участник исследования получает трансдуцированные лимфоциты путем внутривенной инфузии с последующим высокодозным (720 000 МЕ/кг) IL-2 (альдеслейкин; Prometheus, Сан-Диего, Калифорния) каждые 8 часов с учетом переносимости. Ранее помещенный на хранение CAR-T-клеточный продукт транспортируют, размораживают и инфузируют у постели пациента. Доза CAR -Т продукта варьирует от 1×10^4 CAR^{+ve} CD3 клеток/кг до 5×10^9 CAR^{+ve} CD3 клеток/кг согласно протоколу исследования. CAR -Т-продукт может вводиться в виде единственной инфузии или быть разделен на несколько инфузий. Участники

исследования могут получать предварительное лечение 15 мг/кг ацетаминофена п/о (максимум 650 мг) и 0,5-1 мг/кг дифенгидрамина в/б (максимальная доза 50 мг) по меньшей мере за 30 минут до инфузии Т-клеток. Участник исследования может необязательно получать ежедневные инъекции IL-2 человека. Затем могут быть проведены клинические и лабораторные наблюдательные корреляционные исследования по усмотрению лечащего врача.

[00729] Использование как мелоаблативной, так и лимфодеплецирующей химиотерапии перед адоптивной клеточной терапией

[00730] По существу, используется протокол, аналогичный описанному в предыдущем примере, за исключением того, что участник исследования получает как миелоаблативную, так и лимфодеплецирующую схемы химиотерапии. Примеры схем миелоаблативного кондиционирования включают FCE (флударабин 25 мг/м²/день, дни от -7 до -3; циклофосфамид 200 мг/м²/день, дни от -7 до -3; и этопозид 250 мг/м²/день, дни от -4 до -3), FCIE (флударабин 25 мг/м²/день, дни от -7 до -3; циклофосфамид 200 мг/м²/день, дни от -7 до -3; идарубицин 12 мг/м²/день, дни от -7 до -5 и этопозид 250 мг/м²/день, дни от -4 до -3), FluCyE (флударабин 30 мг/м²/день, цитарабин 1,5 г/м²/день, вводимый после флударабина и этопозид 100 мг/м²/день с каждым из препаратов, вводимых с -6 по -1 день), или FE (флударабин 30 мг/м²/день и этопозид 100 мг/м²/день с -5 по -1 день) или этопозид (50-100 мг/м²/день с -5 по -1 день). Субъект получает продукты CAR-T-клеток через 24-72 часа после завершения химиотерапии. Частота и тяжесть синдрома высвобождения цитокинов и нейротоксичности снижаются у пациентов, получавших миелоаблативную и лимфодеплецирующую химиотерапию до введения CAR-T-клеток.

[00731] Применение ингибитора mTOR RAD001 в комбинации с CAR-T-клетками. Данное исследование проводят согласно описанию в предыдущих примерах, за исключением того, что, начиная через день после инфузии CAR-T-клеток участникам исследования вводят ингибитор mTOR, *например*, аллостерический ингибитор, *например*, RAD001, в дозировке, которая обеспечивает целевую минимальную остаточную концентрацию 0,1-3 нг/мл, где «минимальная остаточная концентрация» относится к концентрации лекарственного средства в плазме непосредственно перед введением следующей дозы, или к минимальной концентрации лекарственного средства между введением двух доз.

[00732] Применение ибрутиниба в комбинации с CAR-T-клетками. Данное исследование проводят согласно описанию в предыдущих примерах, за исключением того, что, начиная через день после инфузии CAR-T-клеток, участникам исследования вводят перорально ибрутиниб в дозе от 140 мг/день до 420 мг/день. Отмечено, что у участников исследования, получавших ибрутиниб, наблюдалась меньшая частота встречаемости тяжелого синдрома высвобождения цитокинов по сравнению с участниками, получавшими CAR-T-клетки без ибрутиниба.

[00733] Использование аллогенных CAR-T-клеток для адоптивной клеточной

терапии. Пациенты с рецидивирующей миеломой и лимфомой с первичным выпотом могут получать иммунотерапию с адоптивно перенесенными аллогенными CAR-T-клетками. Продукт лейкофереза, полученный от HLA-совместимого донора, подвергается отбору CD3-положительных Т-лимфоцитов с использованием системы CliniMACS Prodigy® от Miltenyi Biotec и в соответствии с рекомендациями производителя. ВСМА-специфический CAR (SEQ ID NO: 12837, 12890, 12943 или 13049) направлен в локус TRAC в Т-клетках, по существу, как описано в исследовании Euquem J et al (Nature, 543 (7643): 113-117). Клетки размножали в течение 9-12 дней в закрытой системе. После проведения тестирования для контроля качества итоговых клеточных продуктов (в том числе тестов на стерильность и опухолеспецифическую цитотоксичность) их криоконсервируют. В это время участники исследования начинают получать лимфодеплетивную химиотерапию (30 мг/м²/сутки флударабина плюс 500 мг/м²/сутки циклофосфида × 3 дня). Через день после завершения схемы лимфодеплетивной терапии участник исследования получает трансдуцированные лимфоциты путем внутривенной инфузии с последующим высокодозным (720 000 МЕ/кг) IL-2 (альдеслейкин; Prometheus, Сан-Диего, Калифорния) каждые 8 часов с учетом переносимости. CAR-T-клеточный продукт транспортируют, размораживают и инфузируют у постели пациента. Доза CAR-T-продукта может варьировать от 1×10^4 CAR⁺ve CD3 клеток/кг до 5×10^9 CAR⁺ve CD3 клеток/кг согласно протоколу исследования. CAR-T-продукт может вводиться в виде единственной инфузии или быть разделен на несколько инфузий. Участники исследования могут получать предварительное лечение 15 мг/кг ацетаминофена п/о (максимум 650 мг) и 0,5-1 мг/кг дифенгидрамина в/б (максимальная доза 50 мг) по меньшей мере за 30 минут до инфузии CAR-T-клеток. Использование иммунодепрессантов также остается на усмотрение врача. По существу, аналогичный подход может быть использован для лечения других заболеваний с использованием аллогенных иммунных клеток (*например*, Т-клеток), экспрессирующих CAR согласно раскрытию, где CAR нацелен на антиген или антигены, экспрессируемые на вызывающих заболевание или связанных с заболеванием клетках.

[00734] Артериальная печеночная инфузия CAR-T-клеток. Наряду с внутривенной инфузией может быть проведена внутриартериальная инфузия CAR-T-клеток для обеспечения высокой концентрации CAR-T-клеток в локальной области или органе, вовлеченном в заболевание. В приведенном ниже примере метод применяется к пациенту с метастазами в печень рака желудочно-кишечного тракта, который экспрессирует мезотелин (MSLN). По существу аналогичный метод можно использовать для внутриартериальной инфузии CAR-T-клеток, нацеленных на другие опухолевые антигены.

[00735] При включении в исследование проводят картирующую ангиографию, используя доступ через правую общую бедренную артерию. Гастродуоденальную и правую желудочную артерии, наряду с другими потенциальными источниками внепеченочной перфузии, эмболизируют микроспиралями. Такую же процедуру

артериального доступа проводят для введения Т-клеток, экспрессирующих MSLN CAR по отдельности или в комбинации (SEQ ID NO: 16331-16334; 14268-14269; 14321 или 14374). Т-клетки берут у пациента на 0 день, инфицируют кодирующим SIR лентивирусом и размножают согласно описанию в предыдущих примерах. CAR-Т-клетки вводят с эскалацией дозы на 14 день (10^8 CAR-Т-клетки), 28 день (10^9 CAR-Т-клетки) и 44 день (10^{10} CAR-Т-клетки). CAR-Т-клетки инъецируют вручную с помощью шприца объемом 60 см³ со скоростью <2 см³/секунду. Общий объем инфузии составляет приблизительно 100 см³. Ангиографию с калиброванным уровнем контраста проводят после первой инфузии 50 см³ и по завершении инфузии CAR-Т для подтверждения сохранности артериального кровотока. По возможности инфузию проводят в собственную печеночную артерию. У некоторых пациентов наблюдается aberrantная анатомия печеночных артерий, при которой правая или левая печеночная артерия не отходит от собственной печеночной артерии. В таких случаях дозу CAR-Т-клеток разделяют на основании расчета объема долей. В таких случаях разделенные дозы доставляют по отдельности в правую и левую печеночные артерии для обеспечения пропорциональной доставки CAR-Т в обе доли печени. Клиническую оценку осуществляют в момент включения в исследование, в дни инфузии и на 1, 2, 4 и 7 дни после инфузии.

[00736] Внутривентриальное введение CAR-Т-клеток. CAR-Т-клетки также можно вводить внутривентриально, по существу, как описано в Konecny M et al (Journal of Translational Medicine; 2015; 13: 102). В следующем примере этот подход используется в случае пациентов с поражением брюшины раком яичников, который экспрессирует альфа-фолатный рецептор (FR1 или FOLR1). По сути, аналогичный подход можно использовать для внутривентриальной инфузии CAR-Т-клеток, нацеленных на другие опухолевые антигены.

[00737] Пациентам с рецидивирующим тяжелым серозным раком яичников будет предложено скрининговое информированное согласие на проверку их рака на экспрессию FR1 (FOLR1). Если экспрессия FR1 подтверждается иммуногистохимическим анализом, пациенты получают продукт лейкофереза, полученный из периферической крови. На этапе лечения исследования продукт лейкофереза будет разморожен и промыт. Впоследствии CD3+Т-клетки будут выделены из размороженного продукта лейкофереза магнитным разделением с использованием гранул CD3/CD28. Активированные Т-клетки будут трансдуцироваться лентивирусом с помощью FOLR1 CAR [SEQ ID NO: 2120 или 2121] и далее размножаться с использованием протокола размножения гранул CD3/CD28.

[00738] Эти аутологичные Т-клетки будут генетически сконструированы для экспрессии FOLR1 CAR [SEQ ID NO: 2120 или 2121]. Пациенты с рецидивирующей высокозлокачественной серозной карциномой яичников, первичной карциномой брюшины или фаллопиевых труб, у которых выявлена экспрессия антигена FR1, подтвержденная иммуногистохимическим (ИГХ) анализом банковской (залитой парафином) или недавно взятой биопсии опухоли, потенциально будут подходить для исследования.

[00739] Когортам из 3-6 пациентов будут вводить возрастающие дозы модифицированных Т-клеток для установления максимальной переносимой дозы (MTD). Существует четыре планируемых уровня доз: 3×10^5 , 1×10^6 , 3×10^6 и 1×10^7 FOLR1 CAR-T клеток/кг. Когорты I и II будут лечиться 3×10^5 FOLR1 [SEQ ID NO: 2120 или 2121] CAR-T-клеток/кг, но пациенты в когорте II также будут получать лимфоплецирующий циклофосфамид. Когорты II-V будут получать возрастающие дозы модифицированных Т-клеток после предварительной обработки циклофосфамидом. Лимфоплецирующий циклофосфамид в дозе 750 мг/м^2 будет вводиться за 2-4 дня до первоначальной инфузии Т-клеток. Будет соблюдаться стандартная схема повышения дозы 3+3. Если первый уровень дозы превышает MTD, последующая когорта из 3-6 пациентов будет лечиться на уровне дозы -1, равном 1×10^5 FOLR1 CAR-T клеток/кг без добавления лимфоплецирующего циклофосфамида (когорты -I).

[00740] IP-катетер будет помещен перед инфузией Т-клеток. Катетер будет установлен, когда модифицированные Т-клетки будут готовы к введению. Пациенты будут помещены в стационар больницы до первой инфузии CAR Т-клеток и будут оставаться в госпитале в течение как минимум 3 дней после второй инфузии CAR Т-клеток. Первая когорта пациентов, подлежащих лечению, и первый пациент, прошедший лечение в каждой последующей когорте, будут помещены в отделение интенсивной терапии (ОИТ); последующие пациенты могут быть госпитализированы в онкологический стационар (по клиническому заключению лечащего врача).

[00741] Пациенты будут получать однократную дозу химиотерапии с использованием лимфоплецирующего циклофосфамида (750 мг/м^2 внутривенно) за 2-4 дня до начала лечения CAR-модифицированными Т-клетками. Перед инфузией трансдуцированные Т-клетки будут проверены на качество на предмет количества, чистоты, жизнеспособности и стерильности. Все пациенты будут получать 50% дозы генетически модифицированных Т-клеток внутривенно. Пациенты будут тщательно контролироваться на предмет токсичности. Через 1-3 дня оставшуюся дозу Т-клеток вводят внутривенно.

[00742] Образцы крови будут взяты у всех пациентов до и после лечения для оценки токсичности, терапевтических эффектов и выживаемости генетически модифицированных Т-клеток.

[00743] **Применение CAR-T-клеток для внутриопухолевой инъекции.** CAR-T-клетки могут также быть введены внутрь опухолей, по существу согласно описанию в источнике: Brown CE, et al, Clin Cancer Res. 2015 September 15; 21(18): 4062-4072. В примере ниже указанный подход применяют у пациентов с рецидивирующей глиобластомой (GBM), которая экспрессирует EGFRviii. По существу аналогичный способ может быть использован для внутриопухолевой инъекции CAR-T-клеток, нацеленных на другие опухолевые антигены.

Было проведено пилотное исследование безопасности и технико-экономического обоснования для тестирования экспрессии CAR (SEQ ID NO: 1699 или 1700) Т-клеток в

рецидивирующем GBM. Все участвующие пациенты должны подписать форму информированного согласия. Подходящие для исследования взрослые (18-70 лет) с рецидивирующей или рефрактерной унифокальной супратенториальной глиомой III или IV степени, которые не сообщают об опухолях желудочкового/спинномозгового тракта и имеют право на резекцию, подходят для включения в исследование. Пациенты включаются после первоначального диагноза глиомы высокой степени злокачественности (III или IV степени по классификации ВОЗ); на этом этапе пациенты проходят лейкоферез для сбора моноклеарных клеток периферической крови (PBMNC). Эти клетки используются для конструирования Т-клеток для экспрессии CAR EGFRviii (SEQ ID NO: 1699 или 1700), содержащих ген устойчивости к пуромицину (PAC), путем инфицирования соответствующий лентивирусный вектор, как описано в примерах выше. Альтернативно, CAR-Т-клетки можно получить путем инфицирования ретровирусным вектором, или с помощью транспозона Sleeping Beauty, или путем трансфекции мРНК IVT. Терапевтические CAR-Т-клетки, которые были протестированы на высвобождение, затем подвергаются криоконсервации и хранятся для дальнейшего использования. При первом рецидиве опухоли участнику выполняется резекция опухоли одновременно с введением резервуара/катетера Рикхема. Одновременно размораживают терапевтические клетки CAR-Т, реплицируете *in vitro*, используя протокол быстрого роста, основанный на шариках CD3/CD28. После выздоровления после операции и выполнения базовой МРТ-визуализации CAR-Т-клетки будут вставлены непосредственно в полость резекции через постоянный катетер, как описано (Brown CE, et al, Clin Cancer Res.2015, 15 сентября; 21 (18): 4062 -4072). Клетки вручную вводят в резервуар Рикхема с помощью иглы-бабочки 21 калибра для доставки объема 2 мл в течение 5-10 минут с последующей промывкой 2 мл физиологического раствора без консервантов в течение 5 минут. Протокол плана лечения содержит график увеличения дозы для одного пациента, который направлен на введение 12 доз CAR Т-клеток внутримозгово в течение 5-недельного периода, включая еженедельные циклы лечения. Во время циклов 1, 2, 4 и 5 инфузии Т-клеток выполняются в дни 1, 3 и 5 недели цикла, а 3 неделя - это цикл отдыха. По соображениям безопасности в цикле 1 мы применяем стратегию увеличения дозы для одного пациента с дозами 10^7 , 5×10^7 и 10^8 CAR Т-клеток на инфузию, вводимую в дни 1, 3 и 5, соответственно, с последующими еще 9 инфузиями CAR Т-клеток. 108 ячеек за 4 недели. Визуализацию ответа проводят во время 3-недельного цикла отдыха, а также через 5 недель. Для мониторинга токсичности и сообщения о нежелательных явлениях использовались рекомендации Общих критериев токсичности Национального института рака, версия 2.0 (<https://ctep.ifo.nih.gov/>).

[00744] Применение CAR-Т-клеток для очищения ex-vivo препарата костного мозга или стволовых клеток периферической крови перед трансплантацией. CAR Т-клетки могут применяться для очищения препарата костного мозга или стволовых клеток периферической крови от раковых клеток перед трансплантацией стволовых клеток. В следующем примере клетки CAR- Т, экспрессирующие BCMA, используются для очистки

костного мозга или стволовых клеток периферической крови, полученных от пациента с множественной миеломой, до трансплантации аутологичных стволовых клеток (или костного мозга). По сути, подобный подход может быть использован для очистки костного мозга или препаратов стволовых клеток периферической крови с использованием CAR-T-клеток, нацеленных на другие подходящие антигены, которые экспрессируются на раковых клетках и не экспрессируются или имеют незначительную экспрессию на нормальных гемопоэтических стволовых клетках.

[00745] Пациенту предстоит пройти лейкоферез для сбора мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC). Т-клетки будут очищены с использованием гранул CD3. Эти клетки будут использоваться для создания Т-клеток для экспрессии BCMA CAR CD8SP-BCMA-BB-CAR02-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-SP-BCMA-BB-CAR02-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-Xba-PAC [SEQ ID NO: 546], содержащий ген устойчивости к пурамицину (PAC), после инфицирования соответствующим лентивирусным вектором, как описано в предыдущих примерах. Этот CAR нацелен на BCMA, антиген, экспрессируемый на клетках миеломы. CAR-T, экспрессирующий CAR CD8SP-BCMA-BB-CAR02-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-SP-BCMA-BB-CAR02-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC [SEQ ID NO: 552] или CD8SP-BCMA-BB-CAR02-vL-IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-BCMA-BB-CAR02-vH-IgG1-CH1-KPN-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-Xba-PAC [SEQ ID NO: 553] будет использоваться в качестве альтернативы или в комбинации с вышеуказанными клетками CAR-T, нацеленными на CS1. Согласно альтернативному варианту CAR-T-клетки могут быть получены после инфекции ретровирусным вектором или применения транспозона «Спящая красавица», или путем трансфекции IVT мРНК. Затем прошедшие тестирование для выпуска терапевтические CAR-T-клетки криоконсервируют и помещают на хранение для использования позднее, или используют в свежем виде. Продукты клеток костного мозга и клеток-предшественников периферической крови собирают у пациента с множественной миеломой с применением стандартных процедур. Для мобилизации стволовых клеток периферической крови пациенты получают 3 г/м^2 циклофосфида, а затем 10 мкг/кг G-CSF подкожно каждый день, начиная через 24 ч после введения циклофосфида до завершения афереза. Стволовые клетки периферической крови собирают после того, как количество CD34⁺-клеток в периферической крови достигает 15 клеток/мкл. Цель взятия заключается в обработке трех объемов крови в день до тех пор, пока не будет достигнут минимум $2,0 \times 10^6$ CD34⁺ клеток/кг после обработки. Продукты костного мозга и стволовых клеток периферической крови необязательно истощают по эритроцитам и/или обогащают по экспрессирующим CD34 клеткам с применением системы CliniMACS Prodigy® от Miltenyi Biotec, следуя рекомендациям производителя. Указанные продукты, свежие или криоконсервированные, используют для очищения *ex vivo*. Для очищения продукты костного мозга и стволовых клеток периферической крови культивировали совместно с размороженными SIR-T-клетками при соотношении эффекторных клеток к целевым в диапазоне от 5:1 до 30:1 в течение 4-24 часов в среде

XVIVO (Lonza) с добавлением 100 МЕ рекомбинантного IL2 человека. Клетки культивируют при 37°C, в увлажненном инкубаторе с 5% CO². В конце периода совместного культивирования аликвоту клеток отбирают для тестирования стерильности и качества (в том числе измерения КОЕ-ГМ и проточной цитометрии для подсчета положительных по CD34 и CD138 клеток). остальную часть образца вводят внутривенно пациенту, ранее получавшему миелоаблативную химиотерапию (*например*, высокодозный мелфалан в виде двух отдельных доз по 70 мг/м² в общей дозе 140 мг/м²).

[00746] **Использование отбора in vitro и vivo для отбора CAR с желаемыми свойствами.** Пул CARs таргетинга CD19, перечисленные в **таблицах 7** ориентированы на TRAC локус в Т - клетках с использованием TRAC gRNA и методик, известных в данной области техники. Нацеливающий вектор также несет ДНК-«штрихкоды», локализованные в 3'-направлении от стоп-кодона инсертированных CAR. Т-клетки могут происходить из периферической крови. Согласно альтернативному варианту реализации Т-клетки получены из единственного клона иПСК или гематопоетических стволовых клеток с применением методик, известных в данной области техники. Т-клетки, экспрессирующие пул CAR, культивируют совместно с клетками RAJI in vitro в течение 1-21 дней. Аликвоты пулов CAR-Т-клеток собирали до культивирования с целевыми клетками и в разные дни после совместного культивирования. Образцы подвергают секвенированию нового поколения для определения относительной частоты встречаемости разных CAR после воздействия целевыми клетками. Биоинформационный анализ используют для определения CAR, ассоциированных с лучшим пролиферативным ответом после совместного культивирования с целевыми клетками. По существу аналогичный способ применяют для определения CAR, обеспечивающих более высокий пролиферативный потенциал Т-клеток in vivo, и/или долгосрочную персистентность in vivo, и/или более высокую частоту встречаемости при нормировании по частоте в стартовой популяции Т-клеток у выживших животных по сравнению с животными, поддающимися опухолевой провокации. Согласно альтернативному варианту реализации настоящего изобретения по существу аналогичный способ применяют в отношении клинических образцов от человека для идентификации CAR, ассоциированных с разными свойствами и/или исходами, в том числе, но не ограничиваясь перечисленными, лучшую долгосрочную выживаемость, меньшую частоту синдрома высвобождения цитокинов, меньшую нейротоксичность и/или бóльшую долгосрочную персистентность. Такие CAR могут быть затем использованы, по отдельности или в различных комбинациях, для разработки разных подпулов CAR, содержащих CAR, нацеливающие одинаковые или разные антигенсвязывающие домены, с разнообразными свойствами для лечения разных болезненных состояний и разных пациентов. Согласно другим вариантам реализации на CAR-Т-клетки воздействуют клетками их целевой линии и затем сортируют на разные группы на основании уровня внутриклеточного ИФН-γ, определяемого с помощью проточной цитометрии. Определяют частоту встречаемости разных CAR в содержащих низкие или высокие уровни ИФН-γ популяциях с применением секвенирования нового

поколения и нормируют по частоте в контрольной популяции CAR-T-клеток, т.е. CAR-T-клетках, на которые не воздействовали клетками целевой линии или воздействовали клетками линии, не экспрессирующей мишень указанных CAR. В результате проведения указанного анализа могут быть определены CAR, ассоциированные с разными уровнями продуцирования ИФН- γ . Аналогичный способ используют для скрининга и отбора CAR с любым требуемым свойством или особенностью, или их комбинацией, в том числе, но не ограничиваясь перечисленными, меньшим продуцированием ФНО- α , более низкой экспрессией маркеров истощения, более низкой экспрессией маркеров терминальной дифференцировки и/или более высокой экспрессией маркеров цитотоксичности.

[00747] Белок Vif ВИЧ- 1 усиливает опосредуемую лентивирусами трансдукцию и экспрессию гена.

[00748] Клетки 293FT высевали в 10 мл среды DMEM-10 без антибиотиков в 10-сантиметровый планшет для тканевых культур, так чтобы они были приблизительно на 80% конфлюэнтными в день трансфекции. На следующий день клетки трансфицировали методом трансфекции фосфатом кальция с использованием 10 мкг лентивирусной экспрессирующей плазмиды, кодирующей SEQ ID NO: 11244) или CAR 2-го поколения, нацеленного на CD19 и коэкспрессирующего белок Vif ВИЧ-1 (SEQ ID NO: 11245).) и упаковки плазмид (7,5 мкг плазмиды PSPAX2 и 2 мкг PLP/VSVG). Приблизительно через 15-16 часов после трансфекции 9 мл среды удаляют и заменяют 5 мл свежей среды. Приблизительно через 48 часов после трансфекции собирают 5 мл супернатанта (первый сбор) и заменяют свежей 5 мл среды. Приблизительно через 72 часа после трансфекции собирали все среды (второй сбор, обычно около 6 мл). Собранные супернатанты объединяют и центрифугируют при 1000 об/мин в течение 1 минуты для удаления любого клеточного дебриса и неприлипающих клеток. Бесклеточный супернатант фильтруют через шприцевой фильтр 0,45 мкм. Титр лентивирусов измеряют с помощью p24 ELISA. Клетки лейкоцитов получают от здоровых неидентифицированных взрослых доноров из банка крови и используют для выделения мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) центрифугированием в градиенте фикола-гипака. PBMC используются для выделения Т-клеток с использованием магнитных микрогранул CD3 (Miltenyi Biotec) и следуют инструкциям производителя. Т-клетки повторно приостанавливаются в среде XVIVO (Lonza), вытесненной антителами 10 нг/мл CD3, антителами 10ng/ml CD28 и 100 рекомбинантными человеческими-IL2 ME. Очищенные Т-клетки заражены равным количеством лентивирусного вектора, кодирующих 2-е поколение CAR, нацеленных на CD19 (SE-ID NO: 11244) или 2-го поколения CAR, нацеленных на CD19 и совместно выражающих белок ВИЧ-1 Vif (SE ID NO: 11245). Обе конструкции CAR также имеют метку эпитопа MYC. Выражение ЦАР на Т-клеток рассматривается путем иммуностимации с APC-конъюгированных антител MYC и FACS анализа на 48 часов после заражения. Значительно более высокий процент Т-клеток, как установлено, инфицированы конструкцией CAR, совместно выражающей Vif по сравнению с конструкцией CAR без выражения Vif.

[00749] FACS-анализ повторяют через 3 дня после заражения. Опять же, обнаружено, что значительно более высокий процент Т-клеток инфицирован конструкцией CAR, коэкспрессирующей Vif, по сравнению с конструкцией CAR без экспрессии Vif.

[00750] Эксперимент также повторяется в клеточной линии BC-1. Опять же, значительно более высокий процент клеток BC-1, как установлено, инфицированы конструкцией CAR, совместно выражающей Vif по сравнению с конструкцией CAR без выражения Vif.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. По крайней мере, один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по крайней мере один химерный антигенный рецептор (CAR) 1-го или следующего поколения, причем по крайней мере один рекомбинантный полинуклеотид включает:

(a) первый домен нуклеиновой кислоты, кодирующий частичный или полный трансмембранный и/или цитоплазматический домен и, возможно, внеклеточный домен эндогенного белка, где эндогенный белок экспрессируется на поверхности лимфоцитов и запускает активацию и/или пролиферацию лимфоцит;

(b) необязательно полинуклеотидный линкер; и

(c) второй домен нуклеиновой кислоты, функционально связанный с первым доменом нуклеиновой кислоты, где второй домен нуклеиновой кислоты кодирует один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, где связывающий домен выбран из связывающего домена, указанного в Таблица 3;

(d) необязательный третий домен нуклеиновой кислоты, кодирующий костимулирующий домен; и

необязательный дополнительный домен нуклеиновой кислоты, кодирующий вспомогательный модуль.

2. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по п.1, в котором первая нуклеиновая кислота частично или полностью кодирует по меньшей мере одну цепь Т-клеточного рецептора (TCR), как указано в Таблице 13.

3. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по п.2, в котором первая нуклеиновая кислота кодирует по меньшей мере один трансмембранный домен в таблице 13, функционально связанный с цитоплазматическим доменом TCR-типа.

4. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п.1, где полинуклеотид кодирует CAR, причем CAR включает:

(i) частичная или полная константная цепь Т-клеточного рецептора (TCR), имеющая аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 75% идентичности последовательности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 4038-4063, 12602-12638, и которая может включать дополнительный костимулирующий модуль;

(ii) необязательный линкер; и

(iii) один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, связанных с (a) выбранными из связывающего домена, приведенного в таблице 3;

(iv) дополнительный вспомогательный модуль; и

(v) димер полипептида, содержащий (i) - (iv).

5. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по п.4, где рекомбинантный полинуклеотид содержит последовательность, кодирующую любую из последовательностей в таблице 2.

6. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по любому из пп 1-5, отличающийся тем, что вспомогательный модуль содержит аминокислотную

последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 4103-4117 и 4090-4096.

7. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что кодируемый CAR содержит (1) любой из CAR 1-16 из таблицы 1 и/или (2) остовов из таблицы 2; и (3) связывающий домен из Таблицы 3.

8. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п.4, где (i) представляет собой константную цепь CD3z TCR.

9. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по любому из пп.1-6, кодирующий два химерных антигенных рецептора первого или следующего поколения.

10. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по любому из пп. 1-6, кодирующий димер константных цепей CD3z.

11. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один химерный антигенный рецептор следующего поколения (CAR), причем по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид включает:

(a) первый домен нуклеиновой кислоты, кодирующий частичный или полный трансмембранный и/или цитоплазматический домен и, необязательно, внеклеточный домен эндогенного белка CD3z, имеющий последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4064-4066, 4070-4072, и 4075-4078, где эндогенный белок экспрессируется на поверхности лимфоцитов и запускает активацию и/или пролиферацию лимфоцитов;

(b) необязательно полинуклеотидный линкер; и

(c) второй домен нуклеиновой кислоты, функционально связанный с первым доменом нуклеиновой кислоты, где второй домен нуклеиновой кислоты кодирует один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, где связывающий домен выбран из связывающего домена, указанного в Таблица 3; и

(d) необязательный третий домен нуклеиновой кислоты, кодирующий костимуляторный модуль; и

необязательная дополнительная нуклеиновая кислота, кодирующая дополнительный модуль.

12. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п.11, в котором последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие эндогенный белок CD3z, выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 67 и 71.

13. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п. 11 или 12, отличающийся тем, что по меньшей мере один CAR следующего поколения содержит два CAR, каждый из которых содержит цепь CD3z.

14. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по п. 13, отличающийся тем, что фрагмент vL антитела функционально связан с одной из двух цепей CD3z, а фрагмент vH антитела функционально связан с другой цепью CD3z.

15. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п. 14, отличающийся тем, что цепи vL и vH выбраны из пар в таблицах 3 и 4 для конкретной антигенной мишени.

16. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по п. 14 или 15, в котором линкер предусмотрен между цепями vL/vH и/или CD3z.

17. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п. 16, отличающийся тем, что кодируемый линкер выбран из группы, состоящей из IgCL (SEQ ID NO (ДНК): 28 и SEQ ID NO (PRT): 4027) и доменов IgCH (SEQ ID NO (ДНК): 29 и SEQ ID NO (PRT): 4028).

18. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п.11, дополнительно содержащий третий домен нуклеиновой кислоты, кодирующий костимулирующий модуль.

19. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по п. 17, отличающийся тем, что костимулирующий модуль содержит белок 41BB или CD28.

20. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п.18 или 19, отличающийся тем, что костимулирующий модуль содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4067 и 4068.

21. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п. 18, отличающийся тем, что костимулирующий модуль содержит сигнальный домен из любого одного или нескольких из CD134 (OX40), Dap10, CD27, CD2, CD5, ICAM-1, LFA-1, Lck, TNFR. -I, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 и их комбинации.

22. По меньшей мере, один рекомбинантный полинуклеотид по любому из пп. 11-21, дополнительно содержащий вспомогательный модуль, при этом вспомогательный модуль содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 4103-4117 и 4090-4096.

23. Рекомбинантная клетка, экспрессирующая гомо- или гетеродимер химерного антигенного рецептора (CAR) 1-го или следующего поколения, гомо- или гетеродимер, содержащий:

(а) первый домен, кодирующий частичный или полный трансмембранный и/или цитоплазматический домен и, необязательно, внеклеточный домен эндогенного белка, где эндогенный белок экспрессируется на поверхности лимфоцитов и запускает активацию и/или пролиферацию лимфоцита;

(б) необязательно пептидный линкер; и

(с) второй домен, функционально связанный с первым доменом, где второй домен содержит один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, где связывающий домен выбран из связывающего домена, приведенного в таблице 3; и

(d) необязательный третий домен, кодирующий костимулирующий модуль, и где ячейка необязательно содержит вспомогательный модуль,

где гомо- или гетеродимер ассоциирован на поверхности рекомбинантной клетки.

24. Рекомбинантная клетка по п.23, где клетка трансформирована по меньшей мере одним рекомбинантным полинуклеотидом или любым из пп. 1-22.

25. Рекомбинантная клетка по п.23 или 24, где клетка представляет собой Т-лимфоцит (Т-клетку).

26. Рекомбинантная клетка по п. 25, где клетка представляет собой наивные Т-клетки, Т-клетки центральной памяти, эффекторные Т-клетки памяти, Treg или их комбинацию.

27. Рекомбинантная клетка по пункту 23, где клетка представляет собой естественную киллерную (NK) клетку, гемопоэтическую стволовую клетку (HSC), эмбриональную стволовую клетку или плюрипотентную стволовую клетку.

28. Рекомбинантная клетка по любому из пп. 23-27, в которой вспомогательный модуль содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 4103-4117 и 4090-4096.

29. Химерный антигенный рецептор (CAR) состоит из:

(а) первый домен, кодирующий частичный или полный трансмембранный и/или цитоплазматический домен и, необязательно, внеклеточный домен эндогенного белка, где эндогенный белок экспрессируется на поверхности лимфоцитов и запускает активацию и/или пролиферацию лимфоцита;

(б) необязательно пептидный линкер; и

(с) второй домен, функционально связанный с первым доменом, где второй домен содержит один или несколько неприродных антигенсвязывающих доменов TCR, где связывающий домен выбран из связывающего домена, приведенного в таблице 3; и

(d) необязательный третий домен, кодирующий костимулирующий модуль.

30. Химерный антигенный рецептор по п.29, где эндогенный белок содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4064-4066, 4070-4072, 4075-4078 и 12637.

31. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п.29, где первая нуклеиновая кислота частично или полностью кодирует по меньшей мере одну цепь Т-клеточного рецептора (TCR), как указано в Таблице 13.

32. Химерный антигенный рецептор по п.31, где первая [нуклеиновая кислота] включает трансмембранный домен в таблице 13, функционально связанный с цитоплазматическим доменом соответствующего TCR-типа.

33. Химерный антигенный рецептор по п.29, где CAR включает:

(i) частичная или полная константная цепь Т-клеточного рецептора (TCR), имеющая аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 75% идентичности последовательности с последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 4038-4063, 12602-12638, и которая может включать дополнительный костимулирующий модуль.

34. Полинуклеотид, кодирующий рецептор химерного антигена по любому из пп. 29-33.

35. Вектор, состоящий из полинуклеотида по п. 34.

36. Вирус, содержащий полинуклеотид по п. 35.

37. Вирус по п. 36, где вирус представляет собой ретровирус, аденовирус, аденоассоциированный вирус, лентивирус, вирус оспы или вирус герпеса.

38. Фармацевтическая композиция, состоящая из: любого одного или нескольких из по меньшей мере одного полинуклеотида по пп 1-22, рекомбинантной клетки по пп. 23-28, CAR по пп 29-33, вектора по п 35 или вируса п.36.

39. Способ лечения рака, состоящий из: предоставления композиции по п. 38 или рекомбинантной клетки по п. 23; и введение терапевтически эффективного количества композиции или клетки субъекту для лечения рака.

40. Способ по п. 39, где рак представляет собой рак крови.

41. Способ по п. 40, где рак крови представляет собой один или несколько из следующих видов: острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, лимфому, множественную миелому и острый лимфоцитарный лейкоз.

42. По меньшей мере одна рекомбинантная клетка по п.21, где по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид содержит последовательность, кодирующую ВИЧ-1-vif.

43. Рекомбинантная клетка по п. 42, отличающаяся тем, что клетка дополнительно содержит ВИЧ-1-vif.

По доверенности

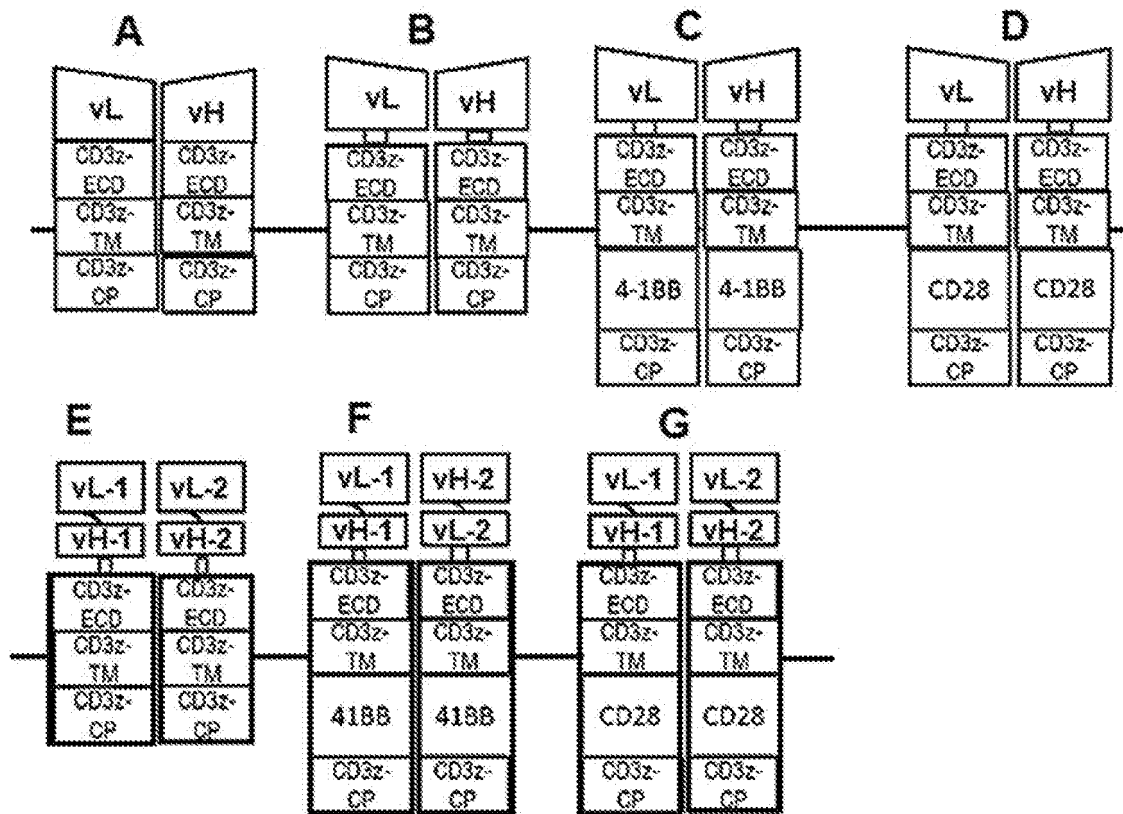


FIG. 1

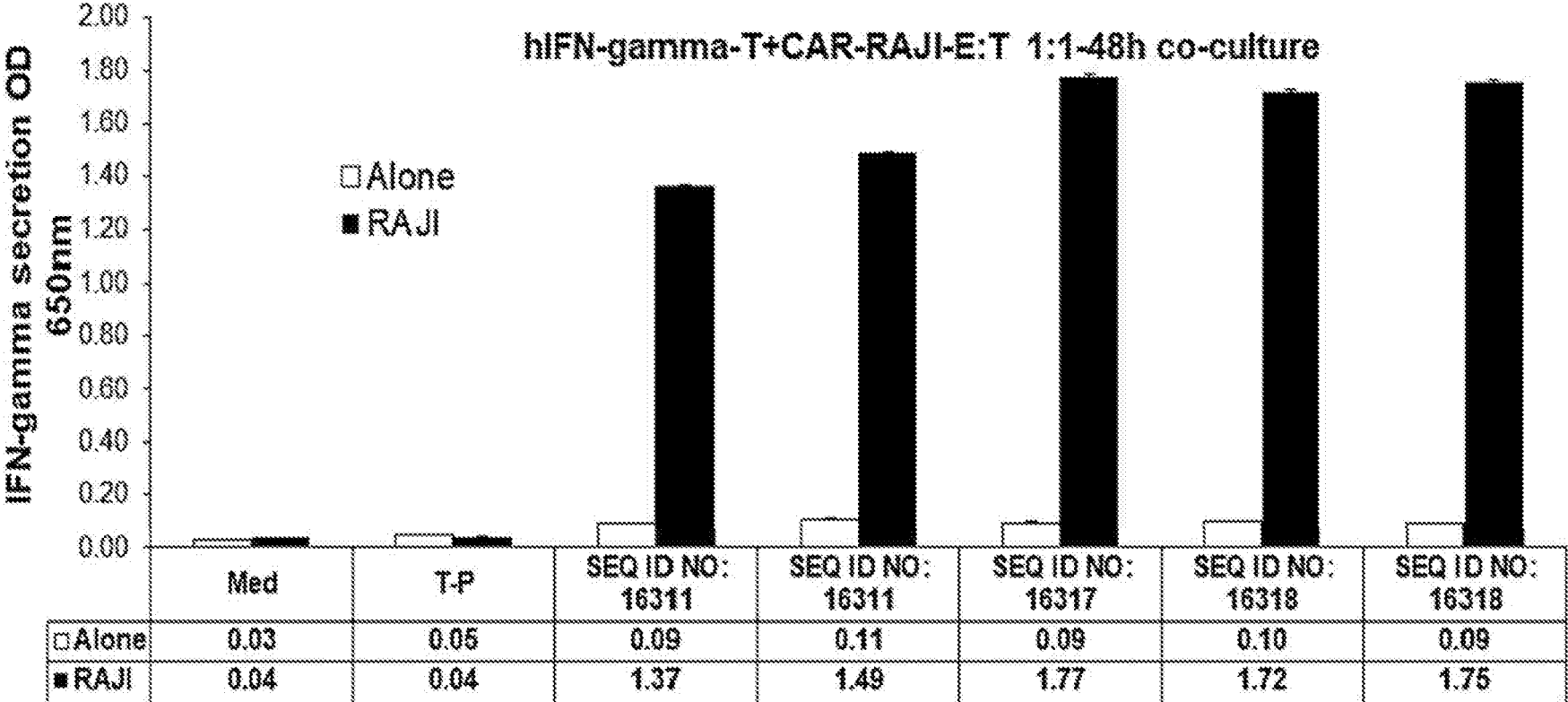


FIG. 2A

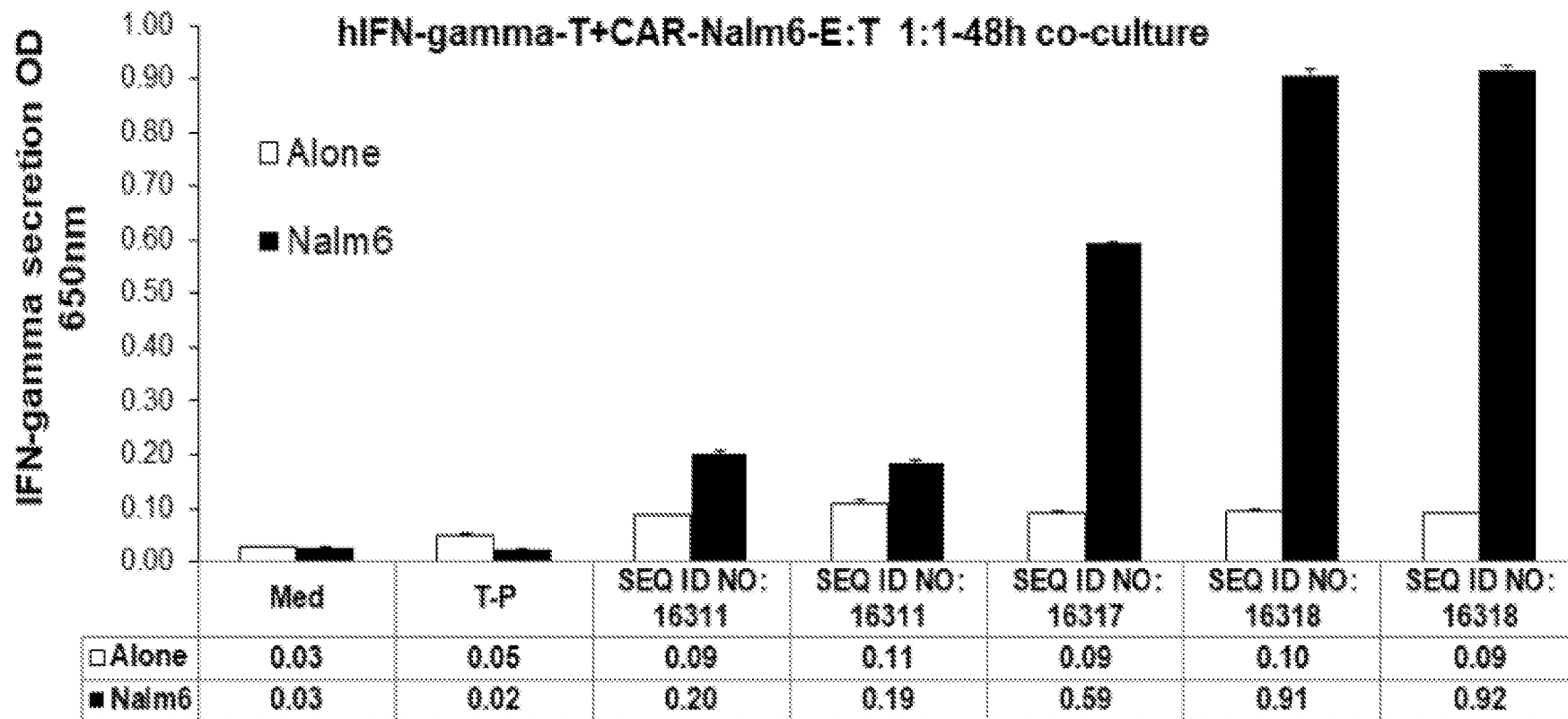


FIG. 2B

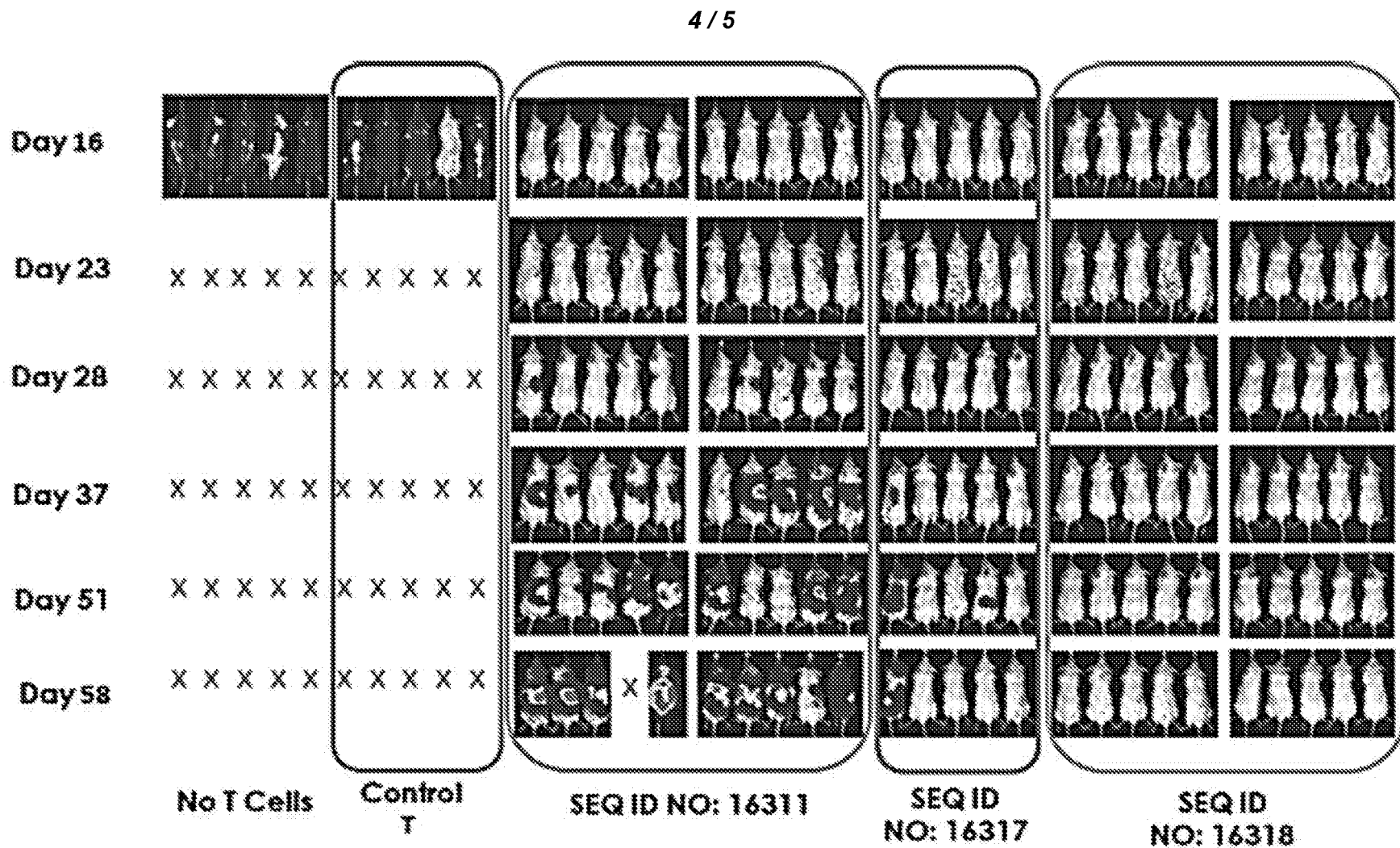


FIG. 3

5 / 5

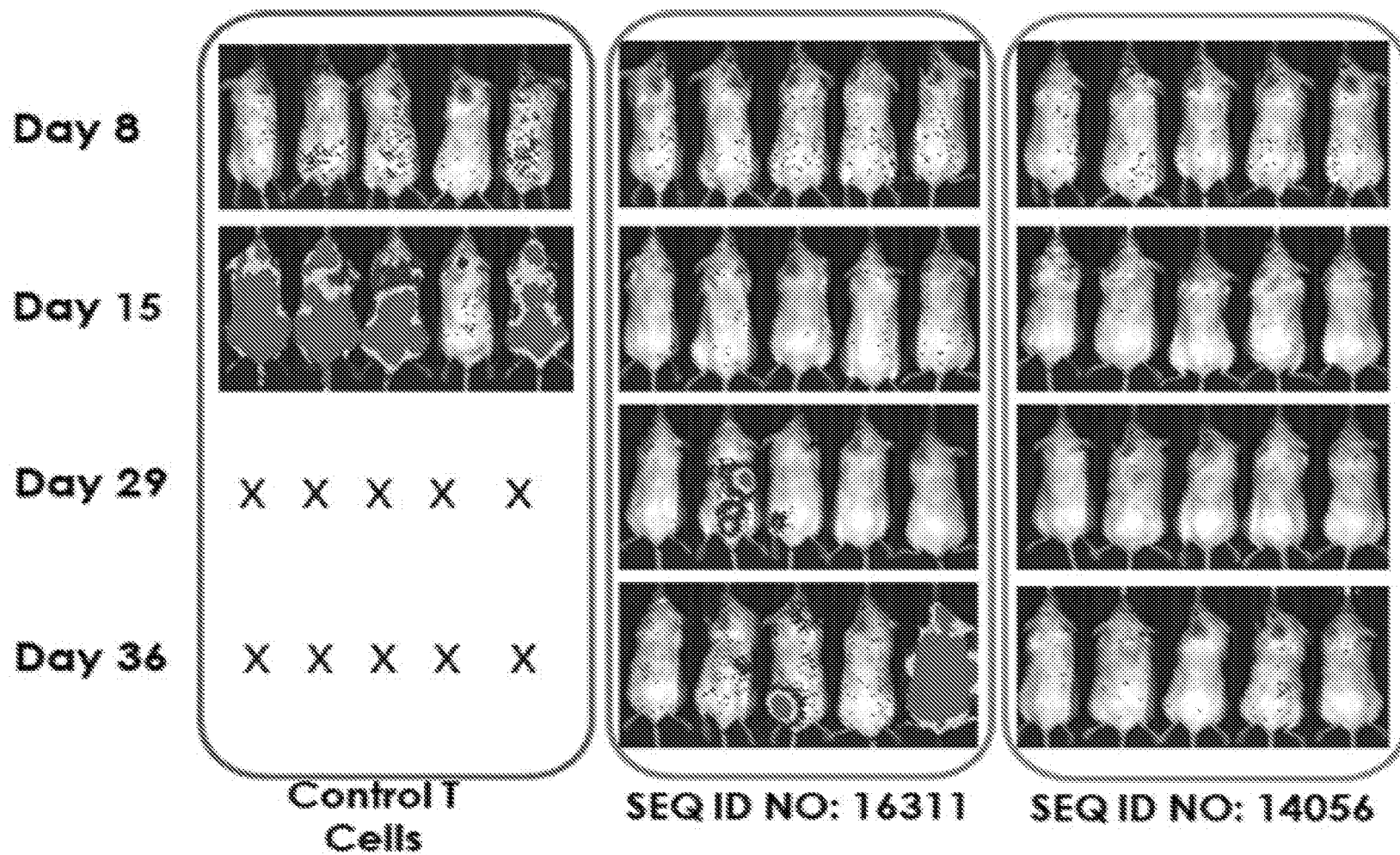


FIG. 4